

**Développement d'une méthode d'analyse semi-ciblée pour les  
contaminants organiques de nouvelle génération dans les eaux**

par

Mathieu Racine

Mémoire présenté au Département de chimie en vue  
de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, Avril 2018

Le 16 avril 2018

*Le jury a accepté le mémoire de monsieur Mathieu Racine  
dans sa version finale.*

Membres du jury

Professeur Pedro A. Segura  
Directeur de recherche  
Département de chimie

Professeur Jean-Philippe Bellenger  
Évaluateur interne  
Département de chimie

Professeure Gessie M. Brisard  
Présidente-rapporteuse  
Département de chimie

Professeur Hubert Cabana  
Évaluateur externe  
Département de génie civil

## SOMMAIRE

Les contaminants émergents sont une nouvelle gamme de contaminants retrouvés dans diverses matrices environnementales. Ils sont composés de différentes familles de molécules dont les principales sont les produits pharmaceutiques, les produits d'esthétique et d'hygiène personnelle, les pesticides, les produits ignifuges, les édulcorants artificiels et les plastifiants. Une des matrices principales où l'on retrouve ces contaminants est l'eau de surface ou leurs principales voies d'entrée se fait par le biais des centrales d'épuration des eaux usées et par la percolation des contaminants à travers les sols. Puisque l'humain consomme et utilise plusieurs composés chimiques dans la vie de tous les jours, leur détection, dans le but d'étudier leur devenir et leur toxicité devient importante. Une des méthodes d'analyse choisie dans les dernières années pour arriver à ce but, est la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide et plus précisément l'analyse semi-ciblée en spectrométrie de masse haute résolution. Elle se caractérise par l'analyse des échantillons, dont le but est d'obtenir les patrons isotopiques des contaminants présents et d'effectuer leur détection par comparaison des patrons isotopiques théoriques contenus dans une librairie contenant des contaminants potentiellement présents. Cette méthode permet d'obtenir des résultats intéressants vis-à-vis les méthodes traditionnellement utilisées comme l'analyse ciblée. Ainsi, puisqu'on utilise une librairie de patrons pour effectuer l'identification, elle permet la détection de composés dont on ne possède pas les standards pour développer la méthode. L'analyse ne se restreint plus aux composés commercialement disponibles. En revanche, puisque l'analyse est portée sur des composés dont on ne possède pas obligatoirement les standards pour effectuer son développement, il peut résulter un taux de faux négatifs non négligeable. Effectivement la méthode d'extraction des échantillons doit être développée d'une manière générale et dans le but de pouvoir détecter le plus de composés possibles.

Ce mémoire traite du développement d'une méthode d'analyse semi-ciblée pour les contaminants de nouvelle génération dans les eaux de surface. Son développement a été effectué dans le but d'évaluer les principaux paramètres pouvant influencer le taux de faux négatifs lors de l'analyse et d'évaluer l'influence des sorbants utilisés, en extraction sur phase

solide, lors de la concentration de l'échantillon. Pour effectuer son développement, un modèle de 38 contaminants émergents de la structure chimique diversifiée, a été élaboré de façon structurée pour que les différentes conditions de l'analyse puissent être déterminées. Dans le développement, différents solvants chromatographiques ont été testés pour étudier leur influence sur les rendements d'ionisation et le taux de faux négatifs. Par la suite, l'influence des voltages appliqués au spectromètre de masse pour effectuer le transfert des ions a été étudiée dans le but d'abaisser le taux de faux négatifs. Finalement, l'algorithme *MOLECULAR FEATURE* a été testé avec le modèle pour évaluer le taux de faux négatifs liés à ce dernier. Les résultats obtenus démontrent que le type de colonne chromatographique, la composition des phases mobiles et les paramètres du spectromètre de masse, peuvent avoir un impact important sur le taux de faux négatifs. Avec la méthode chromatographique et de spectrométrie de masse développée, trois types de polymère en extraction sur phase solide, ont été étudiés. La cartouche neutre Strata-X, les cartouches ioniques faibles Strata-X-CW et Strata-X-AW et les cartouches ioniques fortes Strata-X-A et Strata-X-C ont été sélectionnées. Il a été démontré, avec le modèle de contaminants, qu'il y a peu de différence obtenue dans les résultats d'extraction, lorsqu'on utilise les différents polymères. Dans le but de pouvoir les comparer dans des conditions réelles d'analyse, l'eau de la rivière St-François, a été extraite et analysée. Les cartouches d'extraction neutre et ioniques faibles ont principalement été comparées. Cinq contaminants ont été identifiés avec la cartouche neutre, soit l'acétaminophène, la caféine, le gabapentine, le valénfexine et le N, N-Diéthyl-m-toluamide à différents niveaux d'identification. Les mêmes produits ont été détectés avec les cartouches ioniques faibles en plus du métoprolol. Malgré une légère différence dans les résultats obtenus, il a été démontré qu'un plus grand échantillonnage pourrait permettre d'obtenir une meilleure comparaison des cartouches.

**Mots clés :** Contaminants organiques de nouvelle génération, eau de surface, analyse semi-ciblée, faux négatif, cartouche d'extraction, spectrométrie de masse haute résolution, patrons isotopiques, niveau d'identification.

## REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier le professeur Pedro A. Segura de m'avoir permis d'étudier la chimie analytique et d'effectuer ma maîtrise dans son laboratoire. Plus précisément, de m'avoir permis de développer différentes méthodes d'analyse en spectrométrie de masse et d'apprendre les principaux principes à appliquer lors de leur développement.

J'aimerais aussi remercier, René Gagnon, responsable de la plateforme analytique, à l'Université de Sherbrooke, durant ma première année de maîtrise. J'aimerais le remercier d'avoir eu confiance en mon potentiel en tant qu'étudiant, de me permettre de me développer en chimie analytique par ses nombreux conseils et d'avoir eu confiance en moi lors de l'utilisation des appareils de la plateforme. Dans le même optique, j'aimerais remercier Philippe Venne, responsable de la plateforme analytique de l'Université de Sherbrooke pour ses nombreux conseils lors de mes différents projets de maîtrise.

Je remercie aussi tous les étudiants du laboratoire Segura, ceux qui m'ont apporté leur collaboration et qui m'ont entouré durant mes deux années de maîtrise. Ils ont grandement contribué à mon développement en chimie grâce au partage de leurs connaissances. Ils furent aussi d'une grande aide dans mon développement personnel et professionnel.

J'aimerais remercier les membres de ma famille, soit mon père, Mario Racine, ma mère, Rachel Morin, ma tante Josée Racine et ma conjointe Angela M. Lopez, de m'avoir soutenu tout au long du processus de la maîtrise jusqu'à la rédaction finale de ce mémoire.

Finalement j'aimerais remercier les organismes qui ont financé le projet de recherche, soit l'université de Sherbrooke et le conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada(CRSNG)

## TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	II
REMERCIEMENTS .....	IV
TABLE DES MATIÈRES.....	V
LISTE DES TABLEAUX .....	VIII
LISTE DES FIGURES .....	X
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE 1. CONTAMINANTS ET ANALYSES.....	6
1.1 Les contaminants dans l'environnement .....	6
1.1.1 Les produits pharmaceutiques .....	6
1.1.2 Les produits cosmétiques et d'hygiène personnelle (PCHP) .....	7
1.1.2.1 Les fragrances.....	7
1.1.2.2 Les parabènes .....	7
1.1.2.3 Les filtres ultraviolets .....	8
1.1.2.4 Les antiseptiques .....	8
1.1.3 Les additifs aux plastiques.....	9
1.1.4 Les pesticides.....	10
1.2 Toxicité et écotoxicité .....	11
CHAPITRE 2. NOTIONS THÉORIQUES .....	17
2.1 Introduction .....	17
2.1.1 Extraction sur phase solide.....	17
2.1.2 Logarithme du coefficient de partage octanol-eau ( $\text{LogK}_{\text{ow}}$ , $\text{LogD}$ ) .....	19
2.2 Spectrométrie de masse .....	21
2.2.1 Abondance isotopique .....	21
2.2.2 Spectromètre de masse .....	22
2.2.3 Spectre de masse.....	27
2.2.4 Les chromatogrammes.....	30

2.3 Analyse semi-ciblée.....	31
2.3.1 Degré de correspondance.....	32
2.3.2 Degré de correspondance inverse.....	32
CHAPITRE 3. MÉTHODE EXPÉRIMENTALE .....	35
3.1 Objectifs du développement .....	35
3.3.1 Les composés pharmaceutiques .....	38
3.3.2 Les produit cosmétique et d'hygiène personnelle .....	39
3.3.3 Les phtalates et substituts .....	39
3.3.4 Les retardateurs de flamme.....	40
3.3.5 Les pesticides.....	40
3.3.6Les édulcorants artificiels.....	40
3.4 Développement chromatographique.....	45
3.5 Développement de la méthode MS.....	46
3.6 Développement de la méthode d'extraction.....	48
3.7 Optimisation de la méthode d'analyse semi-ciblée.....	51
3.8 Analyse des échantillons de la rivière St-François .....	52
CHAPITRE 4. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	55
4.1 Analyse du modèle .....	55
4.2 Analyse de la méthode chromatograhique et rendement d'ionisation.....	58
4.3 Analyse de la méthode de spectrométrie de masse.....	67
4.5 Analyse de la méthode de détection avec l'algorithme .....	78
4.5.1 Association des spectres isotopiques.....	78
4.5.2 Les faux positifs .....	81
4.6 Analyse de l'eau de la rivière St-François.....	84
4.6.1 Comparaison des cartouches .....	84
4.6.1.2 Contaminants détectés .....	85
4.6.2 Comparaison des résultats .....	94
CONCLUSION .....	99
ANNEXE.....	103

Annexe 1. Pointage de l'algorithme pour chaque contaminant modèle. ....	103
Annexe 2. Base de données des contaminants potentiellement présents .....	110
Annexe 3. Spectres MS/MS des contaminants dans l'eau de la rivière St-François .....	118
BIBLIOGRAPHIE .....	120



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Contaminants modèles utilisés pour le développement de la méthode semi-ciblée...	40
<b>Tableau 2.</b> Résumé des conditions testées pour l'optimisation de la méthode d'extraction .....	51
<b>Tableau 3.</b> Répartition des composés modèles en fonction du temps dans le gradient chromatographique en mode positif et négatif. ....	59
<b>Tableau 4.</b> Contaminants modèles détectés et non détectés en mode négatif et pKa de leur hydrogène le plus acide.....	67
<b>Tableau 5.</b> Rendement d'extraction en pourcentage pour les contaminants modèle sur les différentes cartouches testées. ....	73
<b>Tableau 6.</b> Contaminants modèles qui ont élué dans les différentes fractions d'élution possédant un additif acide ou basique pour les cartouches ioniques.....	76
<b>Tableau 7.</b> Contaminants détectés au niveau 4 dans les eaux de la rivière St-François avec la cartouche Strata-X ou D.C est le degré de correspondance et D.C.I est le degré de correspondance inverse.....	86
<b>Tableau 8.</b> Contaminants détectés au niveau 4 dans les eaux de la rivière St-François avec la cartouche Strata-X-CW ou D.C est le degré de correspondance et D.C.I est le degré de correspondance inverse.....	88
<b>Tableau 9.</b> Contaminants détectés au niveau 4 dans les eaux de la rivière St-François avec la cartouche Strata-X-AW ou D.C est le degré de correspondance et D.C.I est le degré de correspondance inverse.....	90
<b>Tableau 10.</b> Fragments théoriques et expérimentaux des contaminants admis au niveau 2. ....	93
<b>Tableau 11.</b> Résumé des composés détectés aux différents niveaux de détection lors de l'analyse de l'eau de surface de la rivière St-François. ....	94
<b>Tableau 12.</b> Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés.....	103
<b>Tableau 13.</b> Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X-CW ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I	

est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés.....	104
<b>Tableau 14.</b> Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X-AW ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés.....	105
<b>Tableau 15.</b> Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X-A ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés.....	106
<b>Tableau 16.</b> Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X-C ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés.....	108
<b>Tableau 17.</b> Base de données des contaminants potentiellement présent dans les eaux de surface utilisée pour l'analyse de l'eau de la rivière St-François. ....	110

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Schéma d'un triple quadripôle impliquant une transition pour un couple d'ion précurseur/produit.....	12
<b>Figure 2.</b> Polymères de la compagnie Phenomenex et les différents types d'interactions utilisés pour l'extraction sur phase solide <sup>(31)</sup> . ....	20
<b>Figure 3.</b> Schéma représentant le domaine de masses et de polarité pour l'ionisation de molécules en fonction de la méthode d'ionisation sélectionnée <sup>(35)</sup> . ....	23
<b>Figure 4.</b> Schéma simplifié représentant l'ionisation par l'électronébulisation .....	24
<b>Figure 5.</b> Représentation simplifiée du spectromètre de masse en temps de vol (MAXIS) de la compagnie Bruker Daltonics. ....	27
<b>Figure 6.</b> Spectre de masse théorique de l'ion M+H de l'atrazine. ....	28
<b>Figure 7.</b> Largeur du signal à mi-hauteur (Full Width at Half Maximum).....	29
<b>Figure 8.</b> Schéma représentant la différence entre un spectre de masse résolu et un spectre non résolu .....	29
<b>Figure 9.</b> Représentation des chromatogrammes de tous les ions et d'un ion extrait.....	30
<b>Figure 10.</b> Schéma représentant la relation entre les spectres de masse expérimentaux et théoriques, permettant d'établir le degré de correspondance et le degré de correspondance inverse.....	33
<b>Figure 11.</b> Représentation du glyphosate éluant dans le front de solvant sur une colonne chromatographique en phase inverse ou les chaînes C18 sont la phase stationnaire et les molécules d'eau sont la phase mobile. ....	61
<b>Figure 12.</b> Représentation du mécanisme de rétention du glyphosate sur une colonne chromatographique de type HILIC.....	62
<b>Figure 13.</b> Intensité d'ionisation pour les contaminants modèle ayant le plus ionisés en utilisant le MeOH 0,1% A.F. et ACN 0,1% A.F. comme phase mobile B .....	63
<b>Figure 14.</b> Intensité d'ionisation pour les contaminants modèle ayant le moins ionisés en utilisant le MeOH 0,1% A.F. et ACN 0,1% A.F. comme phase mobile B .....	64
<b>Figure 15.</b> Intensité d'ionisation pour les contaminants modèle en utilisant le MeOH 1 mM AmAc et ACN 1mM AmAc, comme phase mobile B en mode négatif. ....	64

<b>Figure 16.</b> Détection des contaminants modèle en fonction du mode de voltage en balayage et du mode de voltage stable pour la cellule de focalisation. ....	69
<b>Figure 17.</b> Comportement d'un composé éluant possédant une fonctions acides fortes face à des polymères possédant différentes fonctions polaires. ....	77
<b>Figure 18.</b> Liste de masses détectés par l'algorithme MOLECULAR FEATURE pour l'extraction des composés modèles avec la cartouche Strata-X. ....	83
<b>Figure 19.</b> Spectres de masse de contaminants fictifs avant l'échange hydrogène deutérium et après l'échange hydrogène deutérium. ....	92
<b>Figure 20.</b> À gauche, spectre de fragmentation théorique de l'acétaminophène et à droite spectre de fragmentation expérimental. ....	93
<b>Figure 21.</b> Spectre de fragmentation expérimental de la caféine pour l'identification au niveau 2. ....	118
<b>Figure 22.</b> Spectre de fragmentation expérimental du gabapentin pour l'identification au niveau 2. ....	118
<b>Figure 23.</b> Spectre de fragmentation expérimental du métoprolol pour l'identification au niveau 2. ....	119
<b>Figure 24.</b> Spectre de fragmentation expérimental du N,N-Diéthyl-m-toluamide pour l'identification au niveau 2. ....	119

## Introduction

L'eau est une substance fondamentale pour la création et le maintien de la vie sur terre. L'humain lui consacre une grande importance, car elle lui permet de survivre en la consommant. Les principales ressources utilisables pour la consommation humaine sont l'eau souterraine, les rivières et les lacs. Ces ressources sont des écosystèmes d'eau douce abritant plusieurs formes de vie, les uns dépendantes des autres selon plusieurs équilibres complexes. Le maintien de ces équilibres par l'humain, en gardant une qualité d'eau adéquate, lui permet d'exploiter ces ressources dans plusieurs domaines, par exemple, l'agriculture, la pêche et la fabrication d'eau consommable.

Avec le développement de l'ère industrielle au 20<sup>e</sup> siècle, les rivières, l'eau souterraine et les lacs, sont devenus des récepteurs pour plusieurs composés tant inorganiques qu'organiques issus du développement de nouvelles technologies. Dans le cadre de ce mémoire, seulement les polluants anthropogéniques de type organique seront traités. Ces composés anthropogéniques, de structures diverses, jouent un rôle dans le déséquilibre des écosystèmes aquatiques en altérant leur composition naturelle<sup>(1)</sup>. Par exemple, l'atrazine un herbicide à usage agricole, a été détecté dans plusieurs rivières du sud du Québec, à des concentrations maximales de 11 µg/L, 9,7 µg/L et 13 µg/L en 2011, 2012, 2013 et 2014 respectivement<sup>[2]</sup>. D'autres études démontrent qu'à faible concentration, cet herbicide peut avoir des conséquences négatives sur la croissance de certains types d'algues. Une exposition des algues vertes *Chlamydomonas reinhardtii* et *Scenedesmus quadricauda* à une concentration de 50 µg/L de l'herbicide réduit le taux de croissance de ces espèces de 85% et 60% respectivement<sup>(3)</sup>. Il est alors normal que l'être humain se préoccupe de la constitution de ses ressources d'eau et de l'effet de la contamination sur celles-ci. Depuis plusieurs années, multiples recherches ont été effectuées dans le but de détecter, de caractériser et de quantifier ces contaminants. L'ensemble de ces recherches, à travers le temps, a mené à la classification de certaines classes de substances les plus retrouvées. On retrouve deux grandes catégories, soit les contaminants contrôlés et les contaminants d'intérêt émergent.

Les contaminants contrôlés sont des contaminants qui depuis plusieurs décennies (années 60) sont étudiés par la communauté scientifique. Ils sont connus pour leur hydrophobicité et leur faible rendement de dégradation environnementale. Pour cette raison, on les retrouve souvent dans les sédiments des rivières, mais aussi au niveau des eaux de surface en moins grande proportion. Les contaminants les plus connus sont les aromatiques polyhalogénés comme les polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD), les dibenzofuranes (PCDF) et les biphenylpolychlorés (PBC). Ces produits sont issus de diverses sources, par exemple, le PCDD et les PCDF peuvent provenir des rejets des industries avec des procédés chimiques, des combustions à haute température ou des combustions incomplètes de déchets organiques<sup>(4)</sup>. Un autre groupe de contaminants contrôlés sont les pesticides polychlorés comme le DDT et l'hexachlorobenzène (HCB). Plusieurs de ces produits sont reconnus pour être bioaccumulables et toxiques et certains sont même classés comme étant cancérigènes et perturbateurs endocriniens<sup>(1)</sup>. Pour cette raison, ces produits font souvent partie des listes de contaminants bannis ou normés par différents pays qui ont pour objectif la réduction de ces contaminants au niveau environnemental.

Avec le développement des méthodes d'analyses qui a eu lieu dans les deux dernières décennies, une nouvelle classe de contaminants a été identifiée dans l'environnement : On les appelle les contaminants émergents. Ils font l'objet de plusieurs recherches scientifiques pour comprendre leur source, leur devenir environnemental et leur toxicité potentielle. Dans cette catégorie, on retrouve plusieurs types de contaminants tels les produits pharmaceutiques, les produits d'esthétique et d'hygiène personnelle, les plastifiants, les pesticides de nouvelle génération, les produits organométalliques et plusieurs autres <sup>(4)</sup>. Malgré l'avancement de la recherche sur ce type de contaminants, les conséquences de la présence de ces contaminants sur les écosystèmes et sur l'être humain sont encore mal connues. Leur principale voie d'entrée dans les eaux de surface se fait par les stations d'épuration des eaux usées ou par différents moyens tel la percolation des pesticides ou des plastifiants lorsqu'ils sont présents dans l'environnement. Plus l'humain consomme une large gamme de composés organiques, plus la

chance de retrouver une large gamme de composés dans les ressources d'eau douce augmente. Pour identifier ces composés, les méthodes modernes de chimie analytique sont utilisées. Ces méthodes reposent sur l'utilisation des étapes d'enrichissement des échantillons par extraction et l'utilisation des techniques instrumentales sensibles telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) ou la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Trois catégories d'analyse sont connues pour la détection de ces contaminants soit, l'analyse ciblée, l'analyse non-ciblée et l'analyse semi-ciblée<sup>(5)</sup>.

Dans la méthode d'analyse ciblée, des contaminants étalons présélectionnés sont utilisés pour développer et optimiser la méthode d'extraction et les paramètres d'analyses en spectrométrie de masse. La principale caractéristique de cette analyse est que seulement les contaminants sélectionnés sont investigués dans chaque échantillon. Ainsi, lors de l'utilisation de cette méthode, les contaminants étant présents dans l'échantillon pour lequel la méthode d'extraction et d'analyse n'a pas été développée, ne sont pas détectés. Pour combler cette faiblesse, l'analyse non ciblée peut être utilisée.

Cette dernière se caractérise par l'acquisition de toutes les masses ionisables présentes dans l'échantillon à analyser. Avant l'analyse, une méthode d'extraction des contaminants est développée et permet d'extraire le plus de composés possibles. Ainsi on ne néglige aucun contaminant comparativement à l'analyse ciblée. Différents logiciels sont utilisés pour établir les formules brutes possibles des masses exactes d'intérêts parmi les masses détectées et différentes techniques sont utilisées pour investiguer leur structure et confirmer leur identification. La principale faiblesse de cette analyse réside dans le fait que le nombre de masses analysées dans un échantillon, est souvent élevé et ceci mène à des analyses laborieuses.

Pour combler cette faiblesse on peut utiliser l'analyse semi-ciblée. Elle se caractérise par la comparaison des patrons isotopiques théoriques appartenant à une base de données aux

patrons isotopiques provenant d'une analyse en spectrométrie de masse haute résolution. Ainsi l'utilisation d'une base de données ne restreint pas le nombre de composés pouvant être détecté et réduit le temps d'analyse comparativement à l'analyse non ciblée, assurant un suivi adéquat de la présence des contaminants organiques dans les eaux de surface.

L'analyse semi-ciblée présente plusieurs avantages face aux autres types d'analyse. Par exemple, l'utilisation de la base de données permet la détection potentielle d'un plus grand nombre de contaminants comparativement à l'analyse ciblée où le nombre est restreint par le nombre de transitions pouvant être utilisés dans une méthode. Elle présente aussi l'avantage de pouvoir détecter des contaminants dont les standards ne sont pas commercialement disponibles pour développer la méthode ciblée. Ceci est possible car la détection se fait par la corrélation d'un patron isotopiques qui peut être généré par un ordinateur.

La pertinence de cette approche a été démontrée à plusieurs reprises par différents groupes de recherche. Par exemple, en Espagne, une analyse semi-ciblée a permis d'identifier 11 produits de photo transformation d'agents de contraste iodés. Un autre groupe de recherche a réussi à identifier, 11 contaminants organiques dans les eaux de surfaces, dont deux jamais répertoriés dans la littérature<sup>[6][7]</sup>. Il est à noter que ces résultats ont été obtenus sans l'utilisation de composés standards pour développer la méthode.

Un des principaux problèmes reliés à l'analyse semi-ciblée et non ciblée, provient du fait qu'il est difficile d'évaluer si certains contaminants n'ont pas été détectés dans l'analyse comparativement à l'analyse ciblée. Une des principales causes de non détection provient de la méthode d'extraction. Ceci vient du fait que le développement de la méthode d'extraction pour l'analyse ciblée est optimisé pour les contaminants visés. Au contraire, le développement de la méthode d'extraction en analyse semi-ciblée est utilisé pour une large gamme de contaminants, possiblement présents dans l'échantillon et dans la base de données sans toutefois utiliser tous les standards. Une des méthodes de choix pour l'extraction est l'extraction sur phase solide. Ce type de méthode implique une phase stationnaire possédant



différentes fonctions chimiques étant capables d'effectuer différentes interactions avec les contaminants. Ainsi dépendamment du type d'interaction que l'on génère entre le sorbant et les contaminants, certains contaminants seront favorisés lors de l'extraction laissant ainsi certains contaminants sans interaction et non favorisés pour l'extraction. Puisque la base de données contient une grande diversité de structures, l'utilisation de sorbants diversifiés devient essentielle.

Dans l'optique d'effectuer un suivi adéquat de la présence de contaminants organiques dans les eaux de surface, ce mémoire présentera le développement d'une méthode d'analyse semi-ciblée pour les contaminants organiques de nouvelle génération. Plus précisément, l'étude de l'influence des différents sorbants utilisés pour l'extraction sur le taux de faux négatifs sera investiguée. Pour effectuer cette étude, l'optimisation de différents paramètres de l'analyse tels les solvants chromatographiques, les paramètres d'analyse du spectromètre de masse et l'algorithme utilisé pour la détection sera effectuée sur un modèle de contaminants émergents de structures chimiques diversifiées.

## CHAPITRE 1. CONTAMINANTS ET ANALYSES

### 1.1 Les contaminants dans l'environnement

Différentes familles de contaminants sont connues telles les produits pharmaceutiques, les produits d'esthétiques et d'hygiène personnelle, les plastifiants, les pesticides, etc. Les contaminants émergents ont comme principale voie d'entrée les stations d'épuration des eaux municipales, où les différents procédés de traitement ne réussissent pas à tous les éliminer. Dépendamment du type de contaminants, des voies d'entrées secondaires sont connues. Par exemple, les rejets industriels de certaines usines, qui sont déversés direct dans l'environnement peuvent contenir des contaminants. En Inde, le ciprofloxacine, un produit pharmaceutique (antimicrobien) a été quantifié à un taux maximal de 31 mg/L dans les effluents d'une usine de production de médicaments<sup>(8)</sup>. D'autres sources de contamination sont connues, tels l'épandage directe de ces substances dans l'environnement, l'épandage des fumiers ou des boues des stations d'épuration et leur présence dans les dépotoirs. Les composés qui se retrouvent dans ces différents milieux sont entraînés par percolation vers les eaux de surface<sup>(9)</sup>.

#### 1.1.1 Les produits pharmaceutiques

Depuis environ 20 ans, les composés pharmaceutiques attirent de plus en plus l'attention de la communauté scientifique et du public en général, par leur présence dans les eaux de surface. Ces composés organiques sont utilisés en médecine humaine et vétérinaire pour leur activité biologique spécifique. Les principales catégories de produits pharmaceutiques que l'on retrouve dans les eaux de surface sont les analgésiques, les antidépresseurs, les antiépileptiques, les  $\beta$ -bloquants, les antibiotiques, les produits de contraste iodés pour analyse par rayons X<sup>(9)</sup>. Plusieurs de ces composés se retrouvent dans les eaux de surface. Par exemple, l'acétaminophène (antalgique et antipyrétique), l'ofloxacine (antimicrobien) et la carbamazépine (antiépileptique), ont tous été retrouvés dans différentes régions du monde à des concentrations maximales de 10  $\mu\text{g/L}$ , 0,306  $\mu\text{g/L}$  et 7,1  $\mu\text{g/L}$  respectivement<sup>(10)</sup>.

### 1.1.2 Les produits cosmétiques et d'hygiène personnelle (PCHP)

Dans cette classe de contaminants, on retrouve les produits utilisés dans les formulations permettant de concevoir les savons, les déodorants, les parfums, les produits de maquillage, les insectifuges, etc. Ces produits peuvent contenir à eux seuls plus de 7000 ingrédients entrant dans la conception de leur formulation. Parmi ces ingrédients, on retrouve surtout comme substances principales les fragrances, les parabènes, les filtres solaires et les antiseptiques<sup>(11)(12)</sup>.

#### 1.1.2.1 Les fragrances

Les fragrances sont définies comme étant des odeurs agréables. Les produits les plus connus utilisés à cette fin dans les PCHP et entrant dans les contaminants émergents, sont les muscs synthétiques. On retrouve trois types de muscs ayant des structures différentes, mais ayant des propriétés similaires : les muscs nitrés, les muscs polycycliques et les muscs macrocycliques. Les muscs les plus utilisés par les compagnies de produits cosmétiques et non contrôlés, sont les muscs polycycliques. On retrouve entre autres, le galaxolide (HHCB) et le tonalide (AHTN), mais aussi en plus petites proportions le célestolide (ABDI), traseolide (AITI), phantolide (AHMI), cashmeran (DPM)<sup>(13)</sup>. Ces composés sont souvent identifiés et quantifiés dans différentes matrices environnementales comme les sédiments et les eaux de surface. Par exemple, le célestolide (ABDI) fut retrouvé dans les eaux de surface à travers le monde dans un intervalle de concentration allant de 3,1 à 520 ng/L<sup>(14)</sup>.

#### 1.1.2.2 Les parabènes

Les parabènes sont depuis longtemps connus pour leur effet antimicrobien et anti fongique et depuis plusieurs années, on les retrouve surtout comme agents de conservation dans les produits cosmétiques et d'hygiène personnelle. Ils sont synthétisés à partir de l'acide p-

hydroxy benzoïque et de l'alcool correspondant. Ces composés se divisent en deux catégories : les parabènes à courtes chaînes (méthyl et éthyl parabène) et les parabènes à longues chaînes (propyl, butyl, isobutyl et benzyl parabène). Ces composés ont été détectés et quantifiés dans plusieurs types d'eau à travers le monde, dont les eaux de surface, à des concentrations pouvant aller de 1,9 à 35 ng/L<sup>(15)</sup>.

#### 1.1.2.3 Les filtres ultraviolets

Les filtres ultraviolets (UV) sont des composés qui sont utilisés dans les produits cosmétiques pour absorber les rayons ultraviolets du soleil. Ils offrent une protection pour la peau contre les effets chroniques et à court terme des rayons UV menant à des maladies, tels le cancer et les coups de soleil respectivement. Ces molécules ont souvent des noyaux aromatiques en conjugaison avec des fonctions chimiques possédant des doubles liaisons permettant l'absorption des rayons ultraviolets. On retrouve plusieurs familles de filtres UV dont: les benzophénones, les acides p-aminobenzoïques, les camphres, les benzimidazoles, les benzotriazoles, les salicylates, les familles des triazines, les cinnamates, les familles des crylènes, les benzalmalonates et les méthanes de dibenzoyl<sup>(16)</sup>. Ces composés ont été détectés et quantifiés dans les eaux de surface à travers le monde. Par exemple, la benzophénone-3 a été détectée dans un intervalle de concentration allant de 2,5 à 175 ng/L<sup>(17)</sup>.

#### 1.1.2.4 Les antiseptiques

Un antiseptique est un agent chimique que l'on utilise contre les germes de la peau et des muqueuses. Il empêche leur multiplication et leur développement. Deux antiseptiques les plus connus sont, le triclosan et son dérivé, le méthyltriclosan<sup>(12)</sup>. Le triclosan est surtout utilisé dans les savons à main, les gels pour la douche, les déodorants et les pâtes à dents. Il est aussi utilisé comme additif dans les plastiques, les textiles et les ustensiles. Malgré le contrôle de son utilisation dans plusieurs pays, il a été détecté et quantifié dans plusieurs rivières à travers

le monde, dont la rivière Détroit au Canada, à des concentrations entre 4 à 8 ng/L et dans la rivière Ogeechee, aux États-Unis, à un taux moyen de 3,5 ng/L<sup>(18)(19)</sup>.

### 1.1.3 Les additifs aux plastiques

Cette catégorie de contaminants comprend deux classes principales: les additifs aux plastiques pour retarder leur ignition (produits ignifuges) et les additifs pour augmenter leur maniabilité ou leur dureté, aussi connus comme plastifiants tels que les phtalates et le bisphénol A.

Les phtalates sont des produits issus de la réaction entre l'acide phtalique et un alcool. Ces produits sont très utilisés dans l'industrie des polymères pour augmenter la maniabilité et la dureté du plastique. On les retrouve surtout dans le PVC, un des polymères les plus utilisés. Ces produits sont ajoutés à la matrice de polymère sans créer de liaison covalente entre le polymère et l'additif. Pour cette raison, ils sont facilement relâchés du plastique par diffusion dans l'air, l'eau et le sol. On les retrouve dans différents domaines, tel l'industrie automobile, la peinture, l'industrie des appareils électroniques, l'industrie pharmaceutique et cosmétique<sup>(20)(21)</sup>. Il est à mentionner que les phtalates sont des composés connus par la communauté scientifique et la majorité d'entre eux sont maintenant répertoriés comme contaminants prioritaires. Le bisphénol A est un monomère utilisé dans la fabrication industrielle des matières plastiques en polycarbonate de bisphénol A. Il est aussi utilisé comme un intermédiaire dans la production de différents produits tels les produits ignifuges et les résine d'époxy. Ces substances sont retrouvées dans différentes matrices environnementales, entre autres, les eaux de surface. Par exemple, le isodibutyl phtalate a été quantifié dans les eaux de surface à travers le monde à une concentration moyenne de 0,05 à 13,50 ng/L<sup>(22)</sup>.

Les retardateurs de flammes sont des additifs qui préviennent la combustion et la propagation du feu après son ignition. Avec l'interdiction de l'utilisation des retardateurs de flamme

bromés et des diphényles polychlorés, une nouvelle génération de composés utilisés comme retardateur est apparue, les retardateurs de flamme phosphorés. Trois différents groupes de composés sont retrouvés, soit les esters organophosphorés, les phosphonates et les phosphinates qui sont le groupe le plus utilisé. On retrouve ces composés dans divers produits tels les textiles, les caoutchoucs, les mousses polyuréthanes, les équipements électroniques, etc. Ces composés ne sont pas chimiquement liés au produit fini et c'est pourquoi ils sont facilement relâchés, du produit vers l'environnement. Par exemple, le tris(chloropropyl)phosphate (TCPP) a été quantifié dans les eaux de surfaces de différents pays à travers le monde des concentrations allant de 4 à 379 ng/L<sup>(23)(24)</sup>.

#### 1.1.4 Les pesticides

Par définition un pesticide se dit toute substance ou mélange de substances servant à prévenir, détruire, repousser ou atténuer tout parasite ou utiliser comme un régulateur, un défoliant ou un déshydratant<sup>(25)</sup>. Il existe différentes classes de pesticides, par exemple, les fongicides, les insecticides, les herbicides, les phytocides, utilisés respectivement pour combattre les champignons microscopiques, les insectes, les végétaux herbacés et les espèces végétales herbacées et ligneuses. Les pesticides sont utilisés dans divers domaines tels l'agriculture, l'entretien des terrains de golf, l'entretien des terrains résidentiels et dans d'autres secteurs, comme la foresterie, les corridors de transport et les industries<sup>(26)</sup>. Les pesticides sont depuis longtemps retrouvés dans les eaux de surface. Par exemple, le 2,4-D, une substance active dans la composition des herbicides ont été quantifiées à des concentrations maximales de 0,64, 2,5 et 1,3 µg/L, dans différentes rivières du Canada, de 2011 à 2014, respectivement<sup>(2)</sup>.

#### 1.1.5 Les édulcorants artificiels

Les édulcorants artificiels sont des substances que l'on ajoute à divers aliments et qui a comme caractéristique de générer un goût sucré. Depuis quelques années, plusieurs scientifiques ont détecté des édulcorants dans les eaux de surfaces. Ces contaminants ont

comme caractéristiques d'être des molécules hydrosolubles, qui s'adsorbe peu sur la matière organique et puisqu'ils sont retrouvés en grande concentration dans les eaux de surface, on dit qu'ils sont des marqueurs de contamination idéaux. Dans cette catégorie, on retrouve le sucralose et l'acésulfame, qui font partie des édulcorants artificiels les plus retrouvés dans les eaux de surface. Par exemple, on les a retrouvés à travers le monde à des concentrations maximales pouvant atteindre 3,4 µL/L et 25 µl/L respectivement.

## 1.2 Toxicité et écotoxicité

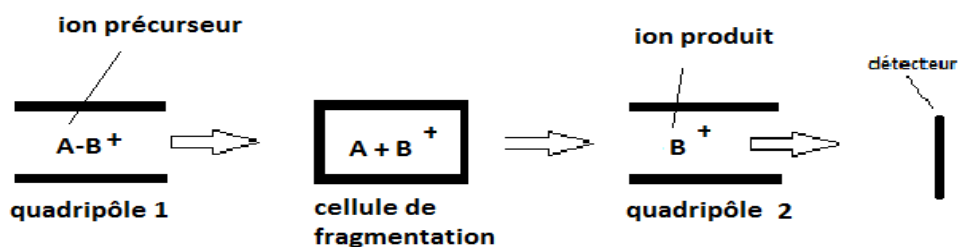
Les effets de la présence des familles de contaminants organiques dans l'environnement sont encore mal connus et font l'objet de plusieurs recherches. Par exemple, une étude menée chez les ménés à tête de boule (*Pimephales promelas*) a démontré que la 17a-éthynilestradiol, un dérivé oestrogénique de synthèse, utilisé dans les pilules anticonceptionnelles, a été reconnue pour agir comme perturbateur endocrinien à des concentrations se situant en dessous de 100 ug/L<sup>(27)</sup>. D'autres recherches ont démontré que les PCHP pouvaient aussi avoir des effets toxiques potentiels. Une autre étude a démontré qu'à une concentration de 71 µg/L, le triclosan pouvait induire des altérations dans le comportement de nage des espèces de poisson suivantes : *Oncorhynchus mykiss*, *Danio rerio* et *Oryzias latipes*<sup>(17)</sup>. Malgré les connaissances actuelles sur les effets des contaminants émergents, plusieurs effets sur l'environnement et les espèces aquatiques sont encore mal connus. Par exemple, les effets synergiques de ces composés sur les espèces aquatiques sont encore à l'étude et peu de connaissance dans ce domaine sont acquises par les scientifiques<sup>(28)</sup>.

La présence des familles de contaminants organiques de nouvelle génération dans les eaux de surfaces et leur toxicité potentielle, énumérés plus haut, démontre tout l'intérêt de faire le suivi de la qualité des eaux de surfaces. De plus, de nouveaux composés organiques de synthèse sont consommés chaque année par l'humain et peuvent potentiellement se retrouver dans les eaux de surface. Puisque ces composés ont une écotoxicité potentielle, il est important de pouvoir les identifier. Pour ce faire, il existe plusieurs méthodes d'analyse qui ont été

développées dans les 20 dernières années. On retrouve principalement trois classes d'analyses, soit l'analyse ciblée, l'analyse semi ciblée et l'analyse non ciblée<sup>(5)</sup>.

### 1.3. Méthodes de détection

Le principe de l'analyse ciblée est basé sur le fait que le développement de la méthode d'analyse est défini pour des molécules présélectionnées. Les étalons des molécules à analyser sont utilisés pour le développement de la méthode d'extraction et pour l'analyse par spectrométrie de masse. L'utilisation d'appareil de spectrométrie de masse en tandem, par exemple les trappes ioniques ou le triple quadripôle permettent de sélectionner l'ion précurseur du contaminant, de le fragmenter et de sélectionner l'ion produit. Ceci est représenté à la figure 1 et consiste à définir une transition pour un contaminant. Pour chaque contaminant, deux transitions sont prédéfinies. Pour chaque transition, l'intensité des ions correspondants est obtenue. Le ratio des intensités de deux transitions pour un contaminant analysé est comparé à celui de l'étalon pour confirmer sa détection en plus de la comparaison du temps de rétention. Ce type d'analyse est surtout utilisé comme analyse quantitative.



**Figure 1.** Schéma d'un triple quadripôle impliquant une transition pour un couple d'ion précurseur/produit.

Lorsque ce type d'analyse est effectué dans le but de détecter des contaminants, plusieurs limitations s'appliquent. Premièrement, en utilisant deux transitions pour chaque molécule analysée, le nombre de molécules pouvant être analysées, varie entre 100 à 150, dépendamment de la chromatographie et de la vitesse d'acquisition du spectromètre de masse. Pour un nombre de molécules plus élevé, le temps d'acquisition pour chaque transition devient



très court et la sensibilité devient affectée. Le nombre d'étalons disponibles pour le développement de l'analyse est aussi souvent restreint par leur disponibilité commerciale. Le nombre limité de molécules pouvant être analysé devient une cause pouvant conduire à une sous-estimation du nombre de produits présents dans la matrice qui ne sont pas ciblés par les transitions. Pour combler ces limitations, les analyses du type semi-ciblé et l'analyse non ciblée sont utilisées.

L'analyse qualitative non ciblée utilise toutes les masses détectées dans l'échantillon analysé en spectrométrie de masse de haute résolution. Suite à l'acquisition des données par le spectromètre, un algorithme isole les signaux enregistrés correspondant à des composés présents dans les échantillons. Par la suite une formule chimique est assignée aux signaux d'intérêt. Grâce à une base de données de structure ou à des recherches littéraires, on assigne une structure à la formule chimique. S'il y a disponibilité commerciale du produit, on peut valider l'analyse par les temps de rétention. Dans le cas contraire ou comme complémentarité du temps de rétention, on peut confirmer la structure par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). Ce type d'analyse requiert un grand investissement dans l'interprétation des données. En effet les possibilités de formules chimiques brutes pouvant appartenir à une seule masse à un niveau de tolérance d'exactitude sur la masse donnée (par exemple  $\pm 10$  mDa ou 5 ppm) sont multiples pour les molécules ayant des masses  $> 200$  Da, compliquant le traitement de données. Plus la masse détectée est haute, plus le nombre de formules chimiques possibles augmente. Avec l'algorithme du logiciel Compass MolWeight to Formula de la compagnie Bruker Daltonics, on obtient 12 formules possibles pour un  $m/z$  de  $350 \pm 10$  ppm et 176 formules possibles pour un  $m/z$  de  $650 \pm 10$  ppm en supposant que les seuls éléments possibles sont C, H, O, N.

L'analyse quantitative semi-ciblée devient alors une solution intéressante pour réduire le nombre de structures possibles et le temps d'analyse des données. Le principe est basé sur l'acquisition de données par spectrométrie de masse de haute résolution comme pour l'analyse non-ciblée. La génération d'une liste de masses et leur patron isotopique sont obtenus grâce à

un algorithme. Par la suite les patrons isotopiques des masses analysés sont comparés à ceux d'une banque de données de composés présélectionnés. Seulement les composés ayant une forte corrélation entre les patrons isotopiques théoriques et expérimentaux sont retenus pour la suite de l'analyse. On confirme l'analyse avec le temps de rétention et une analyse MS/MS, dépendamment de la disponibilité commerciale des composés détectés. Les patrons de fragmentation obtenus dans les analyses MS/MS sont comparés aux patrons expérimentaux répertoriés dans différentes bases de données comme mzCloud et MassBank pour confirmer les structures des contaminants détectés.

Contrairement à l'analyse non ciblée, ce type d'analyse a l'avantage de pouvoir réduire le temps d'analyse des données, comme mentionnée plus haut, car seulement les masses ayant une forte corrélation entre les patrons isotopiques expérimentaux et théoriques sont considérées dans les étapes de confirmation. Vis-à-vis l'analyse ciblée, de nombreux avantages peuvent être relatés. Par exemple, la banque de données permet de pouvoir détecter des contaminants dont on ne possède pas les standards. De plus, puisque le nombre de transitions est limité avec analyse ciblée, les composés ayant déjà été détectés sont le plus souvent investigués. Puisque la base de données peut contenir un nombre presque illimité de contaminants, la chance de détecter des composés n'ayant jamais été détectés augmente considérablement.

Différents groupes de recherche ont développé des méthodes semi-ciblées et ont réussi à mettre à profit les avantages cités plus haut. Par exemple, Bozo *et al.*, ont analysé des échantillons d'eau de surfaces, avec une analyse semi-ciblée, pour identifier des produits de photo transformation d'agents de contraste iodés <sup>(6)</sup>. Différents produits de transformation ont initialement été identifiés dans des expériences impliquant la dégradation d'agent de contraste dans les eaux de surfaces en laboratoire. Par la suite, une analyse semi-ciblée impliquant ces produits, a été effectuée sur des échantillons d'eau de surface. Avec leur approche, ils ont réussi à identifier 11 produits de transformation présents dans différentes rivières en Espagne. Un autre exemple d'étude semi-ciblée réalisée par Christine Hug *et al.*, a été effectuée sur

l'eau brute de stations d'épuration en Allemagne, avec une banque de données comportant 2160 contaminants organiques potentiels. Ils ont réussi à identifier 11 contaminants organiques dont deux jamais répertoriés dans la littérature<sup>(7)</sup>. Un dernier exemple d'analyse semi-ciblée fut effectuée par Aurea C. Chiaia-Hernandez *et al.*, sur des sédiments provenant du lac Greifensee en suisse, avec une banque de données regroupant différents pesticides et produits pharmaceutiques. Ils ont réussi à identifier 6 contaminants et à les valider avec les temps de rétention des standards expérimentaux<sup>(7)</sup>.

Comme mentionné dans les sections précédentes, ce type d'analyses présentent plusieurs avantages par rapport aux analyses ciblées et non ciblées. Par contre, elle a le défaut que le taux de faux négatifs dans l'échantillon peut être difficilement évaluable comparativement à une analyse ciblée. La source principale pouvant mener à des faux négatifs, se situe dans la purification des échantillons <sup>(5)</sup>. Effectivement, la méthode de purification d'une analyse semi-ciblée doit être développée de façon à extraire un maximum d'informations sur la présence des différentes masses dans les échantillons puisque les contaminants potentiellement présents ont souvent une diversité structurale pouvant influencer leur extraction.

Une des méthodes d'extraction la plus souvent utilisée dans ce type d'analyse, est l'extraction sur phase solide. Cette méthode repose sur le principe que l'échantillon aqueux est passé sur une phase stationnaire solide. Les composés d'intérêts sont retenus sur le sorbant et sont par la suite élués avec différents solvants sélectionnés, pour briser les interactions entre les composés et la phase solide. La phase solide peut être un adsorbant neutre ou des adsorbants ioniques de différentes polarités. Dans le cas des adsorbants ioniques, il existe des adsorbants de type ionique faible, ou la charge est dépendante du pH et des adsorbants de type ionique fort ou la charge est indépendante de pH.

Dans les études citées plus haut, une des principales différences est que le type de sorbant utilisé n'est pas le même pour l'extraction. Ainsi, Christine Hug *et al.*, ont utilisé un polymère neutre de polystyrène-di vinylbenzène pour effectuer leur extraction. Comparativement, Bozo

*et Al.*, ont aussi opté pour un polymère neutre, mais ils ont ajouté deux polymères ioniques de type cationique et anionique faibles augmentant le nombre d'interactions possibles avec les masses présentes dans l'échantillon lors de l'adsorption et augmentant aussi potentiellement le nombre de contaminants détectés. Bozo *et al.*, ne sont pas les seuls à avoir adopté cette stratégie d'extraction. Gago-Ferrero *et al.*, ont analysé des eaux brutes de station d'épuration en Grèce avec une analyse semi-ciblée. L'extraction sur phase solide utilisant des polymères neutres, cationiques et anioniques faibles a aussi été utilisée<sup>(29)</sup>.

Lors de la présentation des résultats de ces études, l'emphasis est mise sur les contaminants détectés et la validation structurale de ces contaminants. Par contre, les contaminants détectés sont considérés comme étant la totalité des contaminants présents dans l'échantillon. Aucun test n'a été effectué avec d'autres types de cartouches pour voir si des contaminants différents peuvent être présents. Sachant que le type de cartouches utilisé est un des paramètres clés pouvant influencer les résultats obtenus, il devient pertinent d'étudier leur effet sur le nombre de contaminants détectés pour ce type d'analyse.

Pour effectuer cette étude, une méthode d'analyse qualitative servant à détecter la présence des contaminants émergents dans différents types d'eau sera effectuée. Son développement sera effectué en quatre parties soit l'élaboration d'un modèle de contaminants, le développement d'une méthode chromatographique et le développement d'une méthode de spectrométrie de masse haute résolution pour l'analyse semi-ciblée. Par la suite, la méthode développée permettra d'effectuer une étude comparative des résultats obtenus lors de l'utilisation de différents polymères pour l'extraction sur phase solide, utilisant l'eau de surface de la région de l'Estrie. Des polymères de différentes polarités, soit des polymères neutres, cationiques et ioniques faible, seront utilisés pour l'extraction. De plus, les polymères cationiques et ioniques forts seront ajoutés dans le but de comparer leur performance face aux autres polymères et d'évaluer s'ils permettent de détecter des contaminants différents.

## CHAPITRE 2. NOTIONS THÉORIQUES

### 2.1 Introduction

Les notions théoriques présentées dans ce chapitre sont les notions les plus pertinentes pour la compréhension du développement de la méthode d'analyse semi-ciblée décrite dans ce mémoire. Ce chapitre est divisé en trois sections, soit : l'extraction sur phase solide, la spectrométrie de masse et l'analyse semi-ciblée.

#### 2.1.1 Extraction sur phase solide

L'extraction sur phase solide est une technique de purification et de pré concentration utilisée en chimie analytique. Elle est basée sur les interactions entre les molécules en solution et une phase solide constituée d'un sorbant possédant des fonctions chimiques diverses. La méthode s'effectue en 4 étapes, le conditionnement, le chargement, le lavage et l'élution<sup>(30)</sup>.

Le pH de l'échantillon lors de l'extraction sur phase solide peut influencer les résultats de l'extraction. Dépendamment des structures et de leur fonction chimique constituant les molécules à extraire, ces dernières peuvent se retrouver sous forme de cation, d'anion ou de molécule neutre en solution. Il est alors important de choisir un type d'adsorbant qui permettra d'obtenir les interactions spécifiques pour obtenir une rétention maximale.

Deux familles générales d'adsorbants existent en extraction sur phase solide, soit les adsorbants greffés sur la silice et les adsorbants de type polymérique. Les adsorbants de type polymérique ont un noyau à base de fonction silanol où une liaison avec une chaîne de carbones contenant différentes fonctions est faite dans le but de créer une rétention des composés d'intérêts. Le principe de l'adsorbant polymérique est le même que les adsorbants polymériques. La différence est qu'un polymère constitue le cœur de la cartouche d'extraction

et la rétention se fait avec les différentes fonctions sur le polymère. En fonction du temps alloué aux expérimentations menant à ce mémoire, seulement les adsorbants polymériques ont été utilisés et comparés. Seulement les principes théoriques reliés à ces derniers seront traités.

Les polymères de polystyrène -divinylbenzène (PS-DVB), de polystyrène divinyl pyrrolidone (PS-PVP) et diméthylacryloxyméthyl naphthalène (DMN-DVB) sont les plus utilisés pour la fabrication d'adsorbants polymériques. Le PS-PVP peut interagir avec les analytes de trois manières principales : i) interaction  $\pi$ -  $\pi$  effectué par le cycle aromatique; ii) interaction de type pont hydrogène, effectué par le groupement pyrrolidone et iii) interaction hydrophobe (de van der Waals) effectuée par la chaîne *n*-alkyle et le cycle aromatique. D'autres adsorbants polymères sont synthétisés et sont nommés polymères ioniques. Ces adsorbants sont constitués d'un groupement polystyrène où on a remplacé le groupement pyrrolidone par d'autres groupements qui favorisent des interactions de type ionique. Par exemple, le polystyrène possédant un groupement amine primaire, secondaire ou tertiaire peut être utilisé pour avoir une plus grande rétention des analytes possédant des groupements acides ou anioniques. La rétention est alors favorisée par le biais des interactions ioniques entre les fonctions polaires basiques du polymère et acides des molécules à extraire. On retrouve aussi les interactions de type  $\pi$ -  $\pi$  et hydrophobe (de van der Waals). Des adsorbants similaires ont été synthétisés avec des groupements acides carboxyliques ou des groupements acides sulfoniques, pour favoriser la rétention des bases. Les interactions de même nature que les polymères cationiques sont présentes<sup>(31)</sup>. Les structures chimiques des différents adsorbants décrit dans ce paragraphe, fabriqués par la compagnie Phenomenex sont présentés à la figure 2.

Le conditionnement est effectué avec des solvants allant de basse polarité à haute polarité. Le plus souvent, les solvants utilisés pour l'élution sont utilisés. Le conditionnement se termine par le même solvant que l'échantillon dans les mêmes conditions de pH. Il permet à la phase solide d'être activée pour avoir une rétention maximale des molécules à extraire.

Le chargement de l'échantillon est effectué à un débit (2-4 ml/min) qui est prédéterminé lors du développement de la méthode d'analyse dans des conditions (pH, force ionique, etc) où les analytes ont une rétention maximum.

Après le chargement, la cartouche est lavée pour enlever les sels résiduels ou les molécules pouvant interférer avec les analytes lors de l'analyse. Les lavages les plus typiques sont effectués avec de l'eau au pH du chargement pour ne pas briser les interactions entre l'analyte et la phase stationnaire.

L'élution peut être effectuée avec des solvants de différentes polarités dépendamment des interactions qui retiennent l'analyte. Ainsi le MeOH, l'ACN sont deux solvants utilisés pour briser les interactions de type  $\pi$ - $\pi$  et hydrophobe. L'ajout d'acide ou d'une base au MeOH ou à l'ACN, comme l'acide formique et l'hydroxyde d'ammonium, peuvent servir pour effectuer le bris des interactions ioniques.

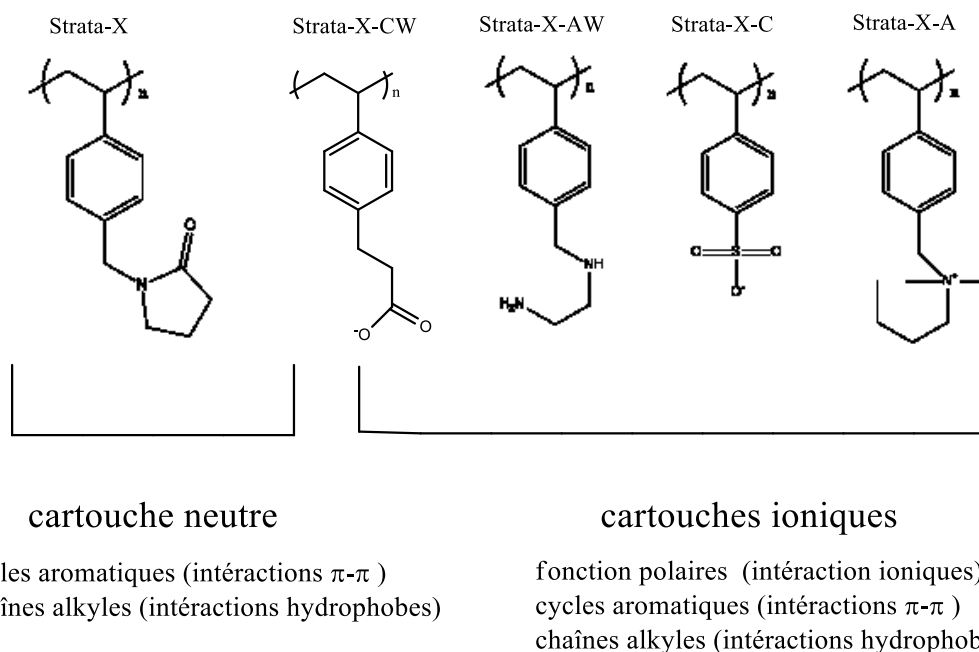
#### 2.1.2 Logarithme du coefficient de partage octanol-eau ( $\text{LogK}_{\text{ow}}$ , $\text{LogD}$ )

Le  $\text{LogK}_{\text{ow}}$  est calculé selon la répartition d'une molécule dans deux solvants immiscibles dans un système biphasé. Il est défini selon:

$$\text{LogK}_{\text{ow}} = \log ([X]_{\text{oc}}/[X]_{\text{eau}}) \quad [2.1]$$

Où  $[X]_{\text{octanol}}$  est la concentration du composé étudié dans l'octanol et  $[X]_{\text{eau}}$  est la concentration du composé étudié dans l'eau.

Cette propriété est calculée en laboratoire et ne tient pas compte de l'effet du pH sur les fonctions ionisables que possède une molécule. Ainsi dépendamment à quel pH se trouve la molécule, sa solubilité peut varier et sa répartition entre la phase organique et la phase aqueuse peut aussi varier. Pour tenir compte de cet effet, le  $\text{logD}$  peut être utilisé.



**Figure 2.** Polymères de la compagnie Phenomenex et les différents types d'interactions utilisés pour l'extraction sur phase solide<sup>(31)</sup>.

Cette propriété est calculée en laboratoire et ne tient pas compte de l'effet du pH sur les fonctions ionisables que possède une molécule. Ainsi dépendamment à quel pH se trouve la molécule, sa solubilité peut varier et sa répartition entre la phase organique et la phase aqueuse peut aussi varier. Pour tenir compte de cet effet, le logD peut être utilisé.

Le logD est calculé à partir du logK<sub>ow</sub> et est défini selon :

$$\log D_{acides} = \log K_{ow} + \log \left[ \frac{1}{1 + 10^{pH - pKa}} \right] \quad [2.2]$$

$$\log D_{bases} = \log K_{ow} + \log \left[ \frac{1}{1 + 10^{pKa - pH}} \right] \quad [2.3]$$



Le  $\log K_{ow}$  et le  $\log D$ , dans le cadre de ce projet, peuvent être utilisés pour comprendre la rétention des contaminants modèles sur une phase solide lors de son extraction d'une matrice aqueuse à différent pH, leur comportement sur une phase solide lors d'une séparation chromatographique ou pour approximer leur présence dans une matrice environnementale aqueuse.

## 2.2 Spectrométrie de masse

### 2.2.1 Abondance isotopique

Deux atomes possédant le même nombre de protons et un nombre différent de neutrons sont appelés isotopes. Dans la nature, chaque élément se retrouve sous ces différentes formes isotopiques, selon une abondance quasi constante. Par exemple, l'hydrogène est composé de plusieurs isotopes, dont  $^1\text{H}$  et de  $^2\text{H}$  étant les plus abondants. Le plus abondant de ces isotopes est  $^1\text{H}$  et  $^2\text{H}$  possède une abondance relative 0,012% respectivement. Vu l'abondance négligeable de  $^2\text{H}$ , l'hydrogène est considéré comme un élément mono-isotopique. Par contre, le carbone est composé de deux isotopes principaux soit le  $^{12}\text{C}$  et le  $^{13}\text{C}$  ou le carbone 12 est le plus abondant et le  $^{13}\text{C}$  possède une abondance relative de 1,1%. Vu la forte abondance de ces deux isotopes, cet élément est considéré comme un élément di-isotopique. Il en va de soi pour les éléments tri et poly isotopiques. Une molécule sera donc composée des différents isotopes des atomes la composant. Par exemple, considérons 1000 molécules de méthane ( $\text{CH}_4$ ), dont 11 molécules seront composées de  $^{13}\text{C}$  et quatre  $^1\text{H}$  et 989 molécules seront composées de  $^{12}\text{C}$  et de quatre  $^1\text{H}$ <sup>(32)</sup>.

L'unité de masse atomique (u) est définie comme étant le 1/12 de la masse d'un atome de carbone 12. Cette unité est identique au Dalton (Da). La masse isotopique est la masse exacte d'un isotope pur. Ainsi le  $^{12}\text{C}$  et  $^{16}\text{O}$  possèdent des masses isotopiques de 12,0000 Da et 15,9944 Da respectivement. En spectrométrie de masse, on utilise la somme des masses isotopiques des isotopes composants la molécule pour calculer la masse exacte d'une molécule avec une précision de  $\pm 0,0001 \text{ Da}$ <sup>(32)</sup>.

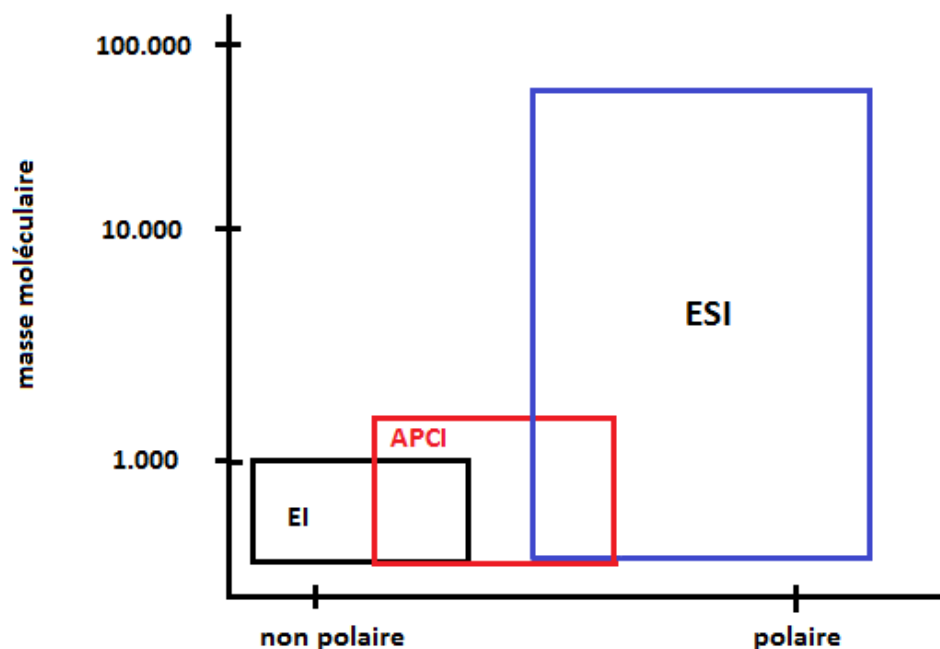
### 2.2.2 Spectromètre de masse

La spectrométrie de masse est une méthode de caractérisation qui repose sur la détermination des rapports de la masse sur la charge ( $m/z$ ) que possèdent les différentes molécules ou atomes pouvant être analysés. Cette technique s'effectue à l'aide d'un spectromètre de masse où on y retrouve plusieurs sections générales, dont un système de pompage, la source d'ionisation, l'analyseur et le détecteur.

Le système de pompage est essentiel en spectrométrie de masse. Il permet entre autres d'enlever les molécules gazeuses provenant de gaz résiduels, évitant ainsi des collisions entre les ions de l'échantillon et les molécules de gaz dans la chambre sous vide et dans les différentes composantes de l'appareil. Le vide associé à la chambre de vol est de l'ordre de grandeur de  $1 \times 10^{-7}$  mBar. Le vide augmente aussi la sensibilité de l'instrument en évitant de générer un bruit par l'impact des molécules de gaz sur le détecteur<sup>(33)(34)</sup>.

Le début de l'analyse en spectrométrie de masse commence par l'ionisation des composés s'introduisant dans l'analyseur. Plusieurs méthodes d'ionisation ont été développées, chacune d'elles se caractérisant selon les mécanismes utilisés pour effectuer l'ionisation. On choisit la méthode d'ionisation dépendamment du type de molécules à analyser. Dans ce mémoire, la méthode traitée sera l'ionisation par électronébulisation. Cette méthode se caractérise par une grande capacité d'ionisation pour une large gamme de composés de différentes polarités et de différentes masses comme présenté à la figure 3.

Le paragraphe suivant décrit le mécanisme d'ionisation en électro nébulisation. La description du mécanisme est en lien avec la Figure 4. Pour commencer, l'échantillon est introduit dans la source, dans un solvant ou un mélange de solvant volatil. Il y a alors formation, sur le bout d'un fin capillaire porté à haut potentiel (1000 à 3500 V), de fines gouttelettes chargées contenant l'analyte et autres molécules de la solution pouvant s'associer à une charge (1). Sous l'effet d'un gaz inerte et de la chaleur (200-350 °C), elles s'évaporent, augmentant leur densité



**ESI: Ionisation par électronébulisation**

**EI: Ionisation électronique**

**APCI: Ionisation chimique à pression atmosphérique**

**Figure 3.** Schéma représentant le domaine de masses et de polarité pour l'ionisation de molécules en fonction de la méthode d'ionisation sélectionnée<sup>(35)</sup>.

de charge (2), jusqu'à obtenir leur explosion, libérant ainsi l'analyte chargé en phase gazeuse (3). On peut retrouver différents types d'ions comme les ions provenant d'une molécule neutre protonée (déprotonée en mode d'ionisation négatif), des ions formés de la fragmentation d'une molécule neutre et des ions formés d'une molécule neutre associée à un cation ou un anion (ion adduit). Par exemple, Nadja B et *Al*, propose plusieurs adduits retrouvés en ionisation par électronébulisation, soit les adduits de sodium, lithium, ammonium, ou autre espèces cationiques présentes en solution dans les micro-gouttelettes<sup>(36)(32)</sup>.

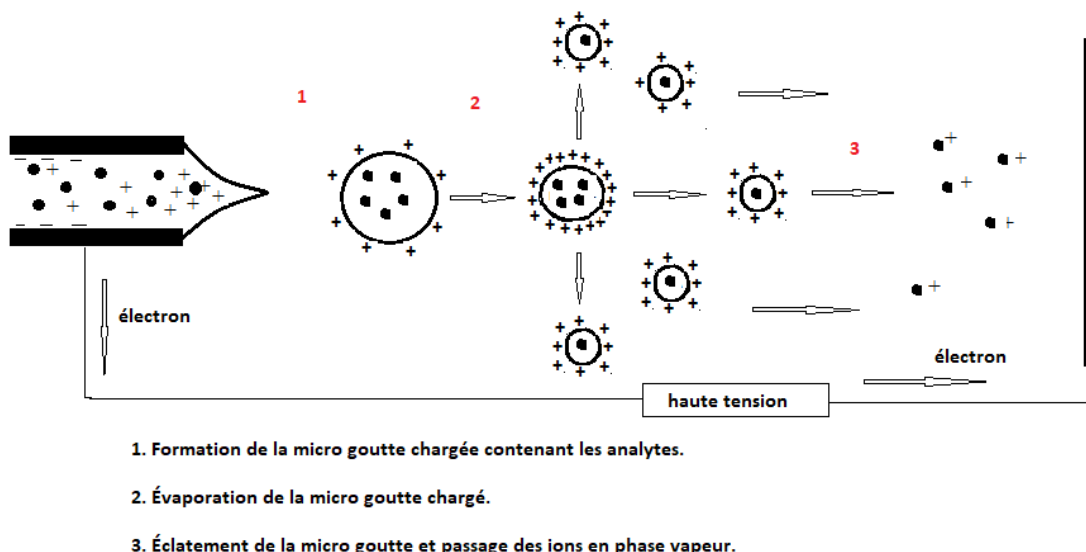


Figure 4. Schéma simplifié représentant l'ionisation par l'électrospray

Lorsque deux molécules sortent de la colonne chromatographique et possèdent le même temps de rétention, ils arrivent nécessairement à la source d'ionisation au même moment. Un phénomène connu sous le nom de suppression d'ionisation peut se produire.

Différents mécanismes sont connus pouvant conduire à ce phénomène. Par exemple, un des principaux est défini par une suppression de l'ionisation pouvant se produire lorsque deux molécules arrivent à la source du spectromètre en même temps et que l'une est en plus grande proportion que l'autre. Les charges disponibles pour l'ionisation sont consommées par la molécules en plus grande concentration et l'autre molécule n'ionise pas.

Un autre mécanisme connu, implique que certains composés peuvent conduire à une augmentation de la viscosité des gouttes, dans la source d'ionisation, comparativement à leur élution individuelle. Ceci conduit à une diminution de l'évaporation du solvant de la goutte dans le mécanisme d'ionisation et de la capacité des ions à atteindre la phase vapeur. Un dernier mécanisme implique la formation de complexes non volatiles entre deux composés qui ont élué au même moment, empêchant la formation d'ions en phase vapeur<sup>(37)</sup>.

Le contraire de la suppression d'ionisation est lorsque deux composés éluent ensemble et que le composé de la matrice favorise l'ionisation du composé d'intérêt.

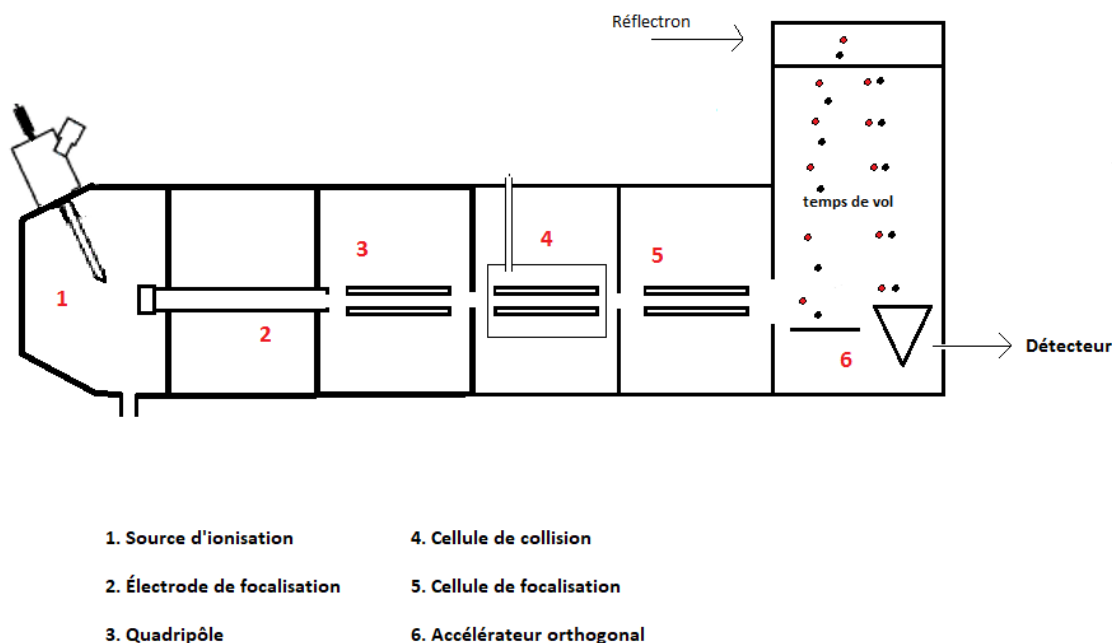
Plusieurs types d'analyseurs ont été développés en spectrométrie de masse. Le choix des analyseurs dépend du type d'analyse que l'on veut effectuer. Dans l'analyse semi-ciblée, la détection des contaminants est faite en comparant les masses des ions détectés ainsi que leur patron isotopique à une librairie de patrons théoriques. Ainsi, plus la masse expérimentale d'un ion est précise, plus il est facile de déterminer si cet ion correspond à un contaminant. Les spectromètres de masse haute résolution sont connus pour donner une précision sur la masse satisfaisante pour ce type d'analyse, comparativement aux spectromètres de masse à basse résolution. Il existe différents types de spectromètre de masse à haute résolution, comme les analyseurs de temps de vol et les orbitrapes et les FT-ICR. Dans ce mémoire, le type d'analyseur décrit, est l'analyseur hybride quadripôle-temps de vol (QqTOF). Le schéma utilisé à la figure 5 pour comprendre son fonctionnement est représentatif du QqTOF, Maxis, de la compagnie Bruker Daltonics<sup>(33)</sup>.

La description du mécanisme est en lien avec la figure 5. Une fois que les ions quittent la source (1), ils sont focalisés et accélérés (2) par une série de disques ou un voltage alternatif est appliqué, vers un analyseur quadripolaire (3). Un voltage alternatif est appliqué pour transmettre un intervalle de ratios masse sur la charge ( $m/z$ ) spécifique. Après l'analyseur quadripolaire, une chambre de fragmentation peut être utilisée pour fragmenter les ions, grâce aux collisions avec un gaz inerte (4). En sortant, les ions sont ralentis et focalisés dans la cellule de focalisation (5). Cette cellule contient un gaz inerte de basse énergie, servant à ralentir les ions et à les focaliser dans la direction de l'accélération orthogonale. Ainsi par l'application d'un voltage sur la cellule, les ions sont transférés vers la chambre de vol. Deux types de voltage peuvent être appliqués, soit les voltages fixes, favorisant le transfert d'une étroite plage de ratio masse sur la charge et un voltage en balayage favorisant une plage plus large. Par la suite, par un procédé impulsif, les ions entrent dans la chambre de vol, acquérant tous une énergie cinétique de même grandeur (6). Ils parcourent alors une distance

$L$  dans un espace sous vide élevé jusqu'à se rendre au détecteur. Puisque l'énergie cinétique est presque la même pour tous les ions, le temps de parcours jusqu'au détecteur dépend principalement du ratio de la masse sur la charge ( $m/z$ ).

Pour pallier aux différences d'énergies cinétiques que peuvent posséder deux ions de même  $m/z$  lors de leur entrée dans la chambre de vol, un réflectron est utilisé. Le réflectron est composé d'un champ électrique de direction opposée au champ d'accélération et il est utilisé pour améliorer la résolution. Ainsi l'ion possédant plus d'énergie cinétique pénétrera en premier dans le réflectron et plus profondément comparativement à l'ion possédant moins d'énergie cinétique. L'ion pénétrant plus en profondeur passera un temps plus long dans le réflectron et ressortira en même temps que l'autre ion de plus faible énergie cinétique. À leur sortie, l'énergie cinétique de ces ions de même  $m/z$  ne change pas, mais ils vont atteindre le détecteur au même moment. Le réflectron fonctionne alors comme un miroir ionique qui sert à focaliser les ions de différentes énergies cinétiques et même  $m/z$  dans le temps[32].

Après avoir été séparés par le temps de vol, les ions terminent leur trajet en frappant un détecteur qui convertit chaque impact de chaque ion, en un signal électrique. Un des détecteurs souvent utilisés en spectrométrie de masse en temps de vol est le détecteur de galettes en microcanaux (*microchannel plate*, MCP). Une galette est constituée de milliers de microcanaux, qui eux sont recouverts en surface d'un matériel riche en électrons. Lorsque les ions viennent frapper les surfaces des galettes, des électrons sont émis et sont accélérés par une différence de potentielle appliquée à la surface de la galette. Ces dernières collisions avec la paroi et une émission supplémentaire d'électrons se produisent. On obtient ainsi une amplification du courant électrique qui correspond au signal de détection des ions.



**Figure 5** Représentation simplifiée du spectromètre de masse en temps de vol (MAXIS) de la compagnie Bruker Daltonics.

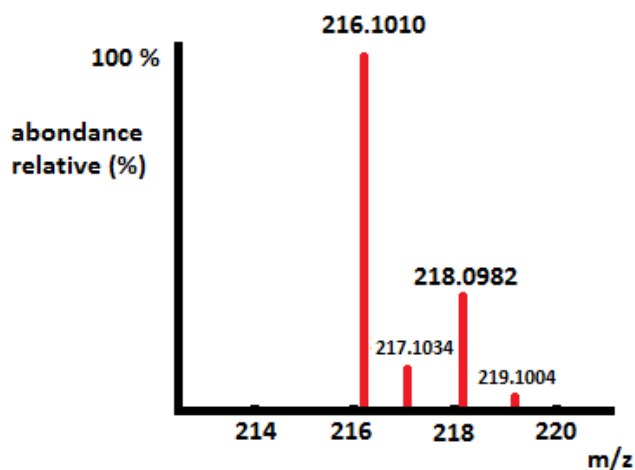
### 2.2.3 Spectre de masse

Le spectre obtenu lors d'une analyse en spectrométrie de masse est appelé : spectre de masse. Il se caractérise par le ratio masse sur charge, mesuré ( $m/z$ ) en abscisse, et les intensités ou les abondances relatives des ratios, mesurées en ordonnée. Différents facteurs liés aux spectromètres de masse, telles la résolution et l'exactitude sur la masse, caractérisent le spectre de masse obtenu et les données obtenues<sup>(32) (34)</sup>. La figure 6 représente le spectre de masse de l'ion moléculaire théorique d'un pesticide connu nommé atrazine.

La résolution est la capacité du spectromètre à pouvoir discerner deux molécules ayant des masses voisines. Elle est définie selon :

$$R_{FWHM} = \frac{m/z_{exp}}{\Delta m/z} \quad [2.4]$$

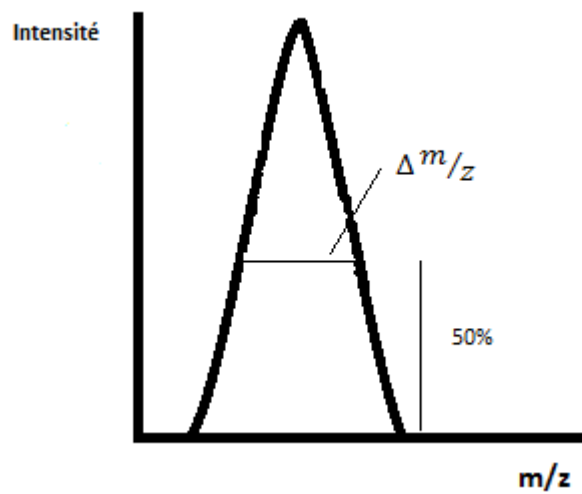
$m/z_{\text{exp}}$  est le ratio de la masse sur charge mesurée par le spectromètre,  $\Delta m/z$  est la différence entre les ratios masse sur charge pour une largeur de pic à mi-hauteur et FWHM est la largeur du signal à mi-hauteur (*Full Width at Half Maximum*). Ces paramètres sont représentés à la figure 7.



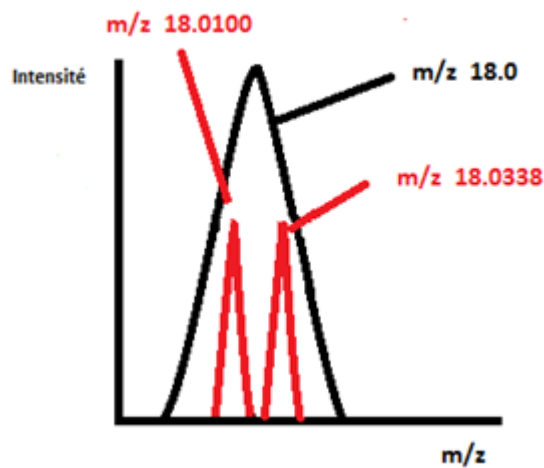
**Figure 6.** Spectre de masse théorique de l'ion M+H de l'atrazine.

Pour un appareil de type QqTOF, cela se traduit par la capacité à pouvoir séparer deux ions de rapport  $m/z$  voisin dans la chambre de vol. Par exemple, les appareils à haute résolution  $R_{\text{FWHM}} > 5000$  permettront de distinguer  $\text{NH}_4^+$  de  $\text{H}_2\text{O}^+$  ayant des masses exactes respectives de 18,034 et 18,011. Le spectre de masse en question aura deux pics correspondant aux deux molécules, par rapport à un spectre venant d'un appareil à base résolution  $R < 5000$  qui démontrera un seul pic ayant un  $m/z$  de 18,0. La figure 8 présente un exemple théorique de spectre résolu et non résolu pour  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{H}_2\text{O}^+$ .





**Figure 7.** Largeur du signal à mi-hauteur (Full Width at Half Maximum)



**Figure 8.** Schéma représentant la différence entre un spectre de masse résolu et un spectre non résolu

Un deuxième aspect des spectres de masse est l'exactitude sur la masse calculée. L'exactitude absolue se définit selon :

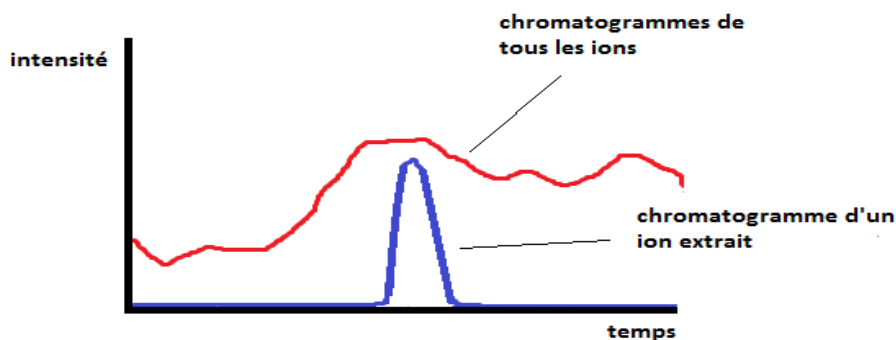
$$\text{Exactitude sur la masse (mDa)} = \left( m/z_{\text{exp}} - m/z_{\text{théo.}} \right) \times 1000 \quad [2.5]$$

Où  $m/z_{\text{exp}}$  est le ratio masse sur charge mesuré par le spectromètre et  $m/z_{\text{théo}}$  est le ratio de la masse sur charge théorique.

#### 2.2.4 Les chromatogrammes

De manière générale, lorsqu'on couple la chromatographie et la spectrométrie de masse, on obtient la séparation des masses constituant l'échantillon par la colonne chromatographique avant leur ionisation dans la source, et l'enregistrement du signal par le détecteur. Le résultat obtenu est présenté sous la forme d'un graphique appelé chromatogramme où l'abscisse représente le temps et l'ordonnée l'intensité du signal détecté. Un des chromatogrammes connus en spectrométrie de masse est appelé "chromatogramme de tous les ions". Dans ce chromatogramme, on représente l'intensité obtenue pour la détection de tous les ions en fonction du temps.

À partir des signaux enregistrés pour tous les ions à travers le temps, on peut obtenir le chromatogramme représentant l'intensité d'un ion détenant un rapport  $m/z$  plus ou moins une exactitude prédéterminée en fonction du temps. Ce chromatogramme est appelé "chromatogramme d'ion extrait". Ces chromatogrammes sont représentés à la figure 9.



**Figure 9.** Représentation des chromatogrammes de tous les ions et d'un ion extrait.

## 2.3 Analyse semi-ciblée

Le principe de l'analyse ciblée sans standard repose sur l'identification des molécules présentes dans un spectre de masse par association avec leur spectre de masse théorique appartenant à une base de données. L'analyse se fait en plusieurs étapes : l'analyse de l'échantillon, l'identification des molécules expérimentales et la comparaison des spectres de masse expérimentaux avec les spectres de masse théoriques. L'algorithme et les pointages de corrélation définis dans le texte suivant sont les paramètres utilisés pour la méthode d'analyse de ce mémoire. La description est tirée du logiciel Data Analysis version 4,2, de Brucker Daltonics.

L'échantillon contenant les analytes est purifié en laboratoire par diverses méthodes d'extraction, avant d'être injecté sur un système chromatographique et être analysé par un spectromètre de masse à haute résolution. Toutes les molécules présentes, pouvant être ionisées par la source et ayant un ratio masse sur charge dans la gamme des ratios sélectionnés par le quadripôle sont enregistrées.

Les masses analysées sont traitées et enregistrées par un algorithme nommé *molecular Feature*. Ce dernier est basé sur le principe que chaque isotope d'un composé atteint le détecteur dans un petit intervalle de temps. De plus, chaque isotope d'une même molécule sera séparé par un intervalle de masse fixe. Par exemple, une molécule possédant une charge de +1 aura un intervalle d'approximativement 1 Da entre ses isotopes. Ainsi l'algorithme considère qu'une série de signaux appartient à un composé, lorsqu'une haute corrélation est obtenue entre l'intervalle de temps de détection des signaux et leur intervalle de masse.

Lorsque les spectres de masse expérimentaux ont été définis, les spectres de masse théoriques sont comparés aux spectres de masse expérimentaux. Une association est faite en fonction de l'exactitude de la masse théorique avec la masse expérimentale. Pour éviter une association non pertinente, une exactitude sur la masse acceptable est prédéfinie, ce qui correspond à un

taux de faux négatifs et de faux positifs minimums. En effet, plus l'exactitude sur la masse pré définie est grande, plus la chance d'avoir une fausse association augmente (faux positif). Le cas contraire est aussi possible, plus l'exactitude sur la masse pré définie est mince, plus on augmente la chance de ne pas effectuer une association pertinente (faux négatif). Lorsqu'une correspondance est effectuée entre deux spectres, un algorithme calcule un pointage pour trois paramètres, permettant de juger de la pertinence de l'association, soit le degré de correspondance et le degré de correspondance inverse.

### 2.3.1 Degré de correspondance

Le degré de correspondance est calculé à partir du spectre de masse expérimental et théorique et peut prendre comme valeur maximale : 1000. Si tous les signaux du spectre théorique, en respectant leur abondance relative, se retrouvent dans le spectre expérimental, le pointage donné sera le score 1000. Plus les signaux du spectre théorique diffèrent de ceux du spectre expérimental, plus le pointage obtenu sera inférieur à 1000. Par exemple, le spectre expérimental 3 aurait un degré de correspondance inférieur à 1000 et le spectre expérimental 2 aurait un degré de correspondance de 1000 (voir figure 10). Ce pointage se calcule selon l'équation 2,6.

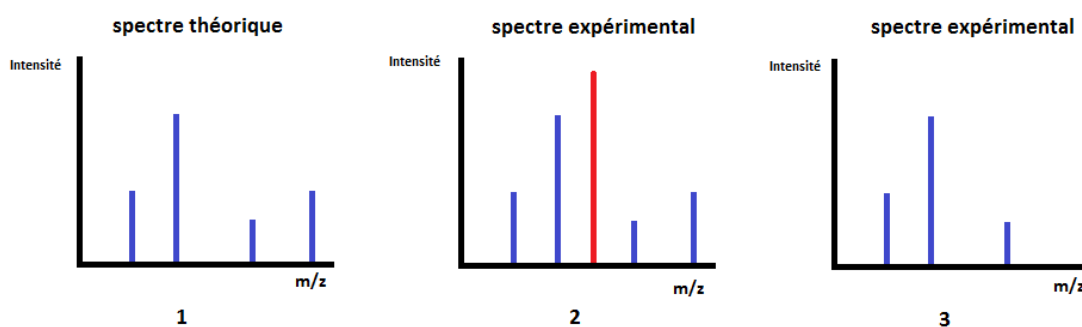
### 2.3.2 Degré de correspondance inverse

Le degré de correspondance inverse est calculé à partir du spectre de masse expérimental et théorique et peut prendre comme valeur maximale: 1000. Si tous les signaux du spectre expérimental, en respectant leur abondance relative, se retrouvent dans le spectre théorique, le score donné sera le score de 1000. Plus les signaux du spectre expérimental diffèrent de ceux du spectre théorique, plus le score obtenu sera inférieur à 1000. Par exemple, le spectre expérimental 2 aurait un degré de correspondance inverse inférieur à 1000 tandis que le spectre expérimental 3 aurait un degré de correspondance inverse de 1000 (voir figure 10). Ce pointage se calcule selon l'équation 2,7:

$$\text{Degré de correspondance} = \frac{1000 * A^2}{T * L} \quad [2,6]$$

$$\text{Degré de correspondance inverse} = \frac{1000 * A^2}{U * R} \quad [2,7]$$

où A est la somme des produits des intensités des signaux du spectre expérimental et théorique, U est la somme des intensités au carré des signaux du spectre expérimental, L est la somme des intensités au carré des spectres de la librairie, T est la somme des intensités du spectre expérimental où l'intensité des signaux du spectre théorique est au-dessus de 0 et R est la somme des intensités du spectre théorique où l'intensité des signaux du spectre expérimental est au-dessus de 0.



**Figure 10.** Schéma représentant la relation entre les spectres de masse expérimentaux et théoriques, permettant d'établir le degré de correspondance et le degré de correspondance inverse.

### 2.3.3 Niveau d'identification

Dans le but d'obtenir un niveau de confiance adéquat dans la détection des contaminants par analyses semi-ciblées et non ciblées, 5 niveaux d'identification ont été établis[38].

Le niveau d'identification 5 correspond à l'obtention d'une masse exacte d'intérêt par le spectromètre de masse. Pour qu'un contaminant obtienne un niveau d'identification 4, son patron isotopique expérimental doit avoir une corrélation avec le patron isotopique théorique de la librairie, ceci menant à une formule moléculaire brute. Cette corrélation est définie en assignant un pointage de corrélation minimum lors du développement de la méthode.

Pour qu'un contaminant possède un niveau d'identification 3, on doit partir de la formule brute et élucider partiellement la structure. Pour ce faire, on peut confirmer la présence des différentes fonctions chimiques composant la molécule et confirmer s'il y a possibilité d'obtenir des isomères pour la structure trouvée. On peut utiliser différentes analyses, tels l'échange hydrogène-deutérium, la RMN, la fragmentation, etc.

Pour qu'un contaminant obtienne un niveau d'identification 2, on doit obtenir une forte corrélation entre les fragments obtenus pour les spectres de fragmentation expérimentaux et les spectres de fragmentation théoriques.

Le niveau 1 est atteint lorsque l'étalon pur du contaminant est injecté dans le gradient d'analyse et que le temps de rétention obtenu pour l'étalon correspond à celui obtenu pour le contaminant dans l'échantillon.

## CHAPITRE 3. MÉTHODE EXPÉRIMENTALE

### 3.1 Objectifs du développement

Le développement de cette méthode a été effectué dans le but de répondre à deux objectifs énumérés au chapitre 1. Le premier est de pouvoir évaluer les performances des différentes cartouches en extraction sur phase solide pour détecter les différents contaminants. Cette comparaison servira à établir si l'utilisation de différents adsorbants est réellement nécessaire et si elle permet d'abaisser le taux de faux négatifs lors de l'extraction. Puisque la base de données utilisée (voir Annexe 2) comprend des contaminants ayant différentes structures chimiques qui influencent leur rendement d'extraction vis-à-vis différents adsorbants, le modèle devra être représentatif de cet aspect. Trois critères seront utilisés pour développer le modèle et permettront d'obtenir une variété de structures ayant différentes propriétés, et d'adapter les conditions d'extraction pour extraire un maximum de composés et permettre une comparaison des cartouches utilisées.

Le développement du modèle servira aussi à établir les conditions permettant d'obtenir une méthode d'analyse MS et chromatographique efficace pour effectuer l'analyse. Il contiendra une variété de structures possédant différentes fonctions chimiques. Cette variété de structures permettra au modèle d'être représentatif des contaminants potentiellement présents dans les eaux de surfaces et mènera au développement d'une méthode d'analyse permettant de détecter une grande variété de contaminants.

Par la suite, la méthode d'extraction, sera optimisée et les rendements de chaque cartouche vis-à-vis les contaminants modèles seront étudiés et comparés. L'algorithme de détection et d'association des spectres sera testé sur les composés modèles. Par la suite, l'étude comparative des cartouches sera effectuée sur l'eau de surface de la rivière St-François sans l'ajout des composés modèles, dans le but d'obtenir des conditions réelles d'analyse.

### 3.2 Optimisation de la méthode

Le premier paramètre à optimiser est la méthode chromatographique. Dépendamment des phases mobiles utilisées lors de l'analyse chromatographique, la formation de certains ions sera favorisée dans la source d'ionisation. Par exemple, des conditions acides favoriseront la production des cations par l'ajout d'un hydrogène sur les fonctions chimiques basiques des molécules dans l'échantillon. Au contraire, des conditions basiques favoriseront la production des anions par arrachement des hydrogènes sur les fonctions acides des contaminants. Il a aussi été démontré dans la littérature que dépendamment du type de solvant utilisé pour effectuer la séparation chromatographique, le rendement d'ionisation pouvait différer pour une même molécule<sup>(39)</sup>. Il devient alors important de développer une méthode favorisant la production des différents ions possibles en mode positif et négatif d'ionisation, tout en s'assurant d'obtenir les conditions permettant d'obtenir les meilleurs rendements d'ionisation, favorisant la détection des composés en base concentration.

Le deuxième paramètre à optimiser dans le développement de la méthode de spectrométrie de masse est la cellule de focalisation. Dépendamment de la valeur du voltage appliqué dans cette cellule, certains ions d'intérêt peuvent ne pas être transférés vers l'injecteur orthogonale et vers le détecteur dans la chambre de vol. Comme mentionné au chapitre 2, le transfert de ces ions dépend de la masse pour un voltage donné. Il est alors important de développer une méthode permettant de minimiser les faux négatifs dus à cette composante de l'instrument.

Le troisième paramètre à optimiser et qui servira à faire la comparaison des cartouches, est la méthode d'extraction. Puisque les structure des contaminants à identifier sont inconnues, trois types de cartouches polymériques seront testés, soit une cartouche neutre (Strata-X), des cartouches ioniques faibles (Strata-X-AW, Strata-X-CW), des cartouches ioniques fortes (Strata-X-A, Strata-X-C) (voir chapitre 2). Cette sélection permet d'obtenir les interactions nécessaires pour maximiser la rétention des différents contaminants en solutions, sous leurs



différentes formes. Différents pH seront testés dépendamment des cartouches utilisées et les rendements d'extraction pour les contaminants modèle, seront comparés.

### 3.3 Élaboration du modèle et sélection des contaminants

Dans le but de pouvoir optimiser les paramètres décrits dans la section *Optimisation de la méthode*, un modèle de contaminant a été élaboré. Dans le but de pouvoir structurer l'élaboration du modèle, les contaminants modèles ont été sélectionnés selon trois critères prédéfinis énumérés dans les paragraphes suivants.

Le premier critère utilisé inclut que les contaminants du modèle doivent faire partie des catégories de contaminants organiques de nouvelle génération, retrouvés au niveau de la littérature.

Le deuxième critère inclut que les composés doivent être représentatifs des contaminants pouvant se retrouver dans les eaux de surface. Pour respecter ce critère, les contaminants ont été sélectionnés selon leur présence dans les eaux de surface, tel que défini par différentes études dans la littérature.

Il est important de mentionner que certains contaminants ont été sélectionnés autrement que par leur détection dans les eaux de surface. Pour que le critère 2 soit respecté, la présence potentielle de ces contaminants dans les eaux de surfaces, a été définie avec la valeur de leur log D, au pH de 7,4. Ainsi la valeur du log D permet d'établir si un contaminant aura tendance à se répartir dans la phase aqueuse ou dans les particules de matière organique. Un composé ayant une base valeur de log D relativement à un autre aura une plus grande tendance à se retrouver dans les eaux que dans la matière organique des eaux de surface. La valeur du pH utilisé a été défini comme un pH moyen du domaine habituel de pH pour les eaux de surfaces, présenté dans le suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau, effectué par le

ministère du développement durable, environnement et lutte contre les changements climatiques[40].

Pour définir la valeur limite de logD pouvant représenter la présence d'un contaminant en eau de surface, une stratégie simple a été utilisée. La plus haute valeur de logD des valeurs obtenues à partir des contaminants modèles détectés dans les eaux de surfaces, a servi comme valeur limite. Les valeurs de logD pour les contaminants modèle ont été calculés grâce au calculateur de logD retrouvé sur Chemicalize.com.

Le troisième critère implique que les molécules modèle doivent posséder une diversité structurale permettant de développer les paramètres de l'analyse menant à un taux de faux négatifs minimum, énuméré dans la section précédente. Plus précisément, le modèle devra être constitué de contaminants détenant une large gamme de masse pour optimiser la cellule de focalisation. Il devra aussi être constitué de composés possédant différentes fonctions chimiques permettant d'optimiser les méthodes chromatographiques et d'extraction.

La sélection des molécules modèle a été effectuée parmi les différentes classes de contaminants organiques de nouvelles générations énumérées dans la littérature<sup>(12)(1)</sup>. Les contaminants sélectionnés sont présentés au tableau 1.

### 3.3.1 Les composés pharmaceutiques

Les composés pharmaceutiques ont été sélectionnés à partir d'une liste de composés retrouvés dans les eaux de surfaces et dans les rejets d'usines d'épuration à travers le monde<sup>(10)</sup>. À partir de ces deux listes, une sélection des composés ayant été retrouvés à une concentration égale ou supérieure à 1 µg/L, dans les deux types d'eaux et étant structurellement différents, a été effectuée. Cette méthode de sélection permet de s'assurer que les composés aient un certain temps de persistance dans les eaux de surface et ainsi respecter le critère 2. Une deuxième sélection a été effectuée pour les composés se retrouvant dans les deux types d'eaux et ayant

une concentration se situant entre 0,5 µg/L et 1 µg /L. Dans le but d'avoir une diversité structurale, un produit ostrogénique détecté à 0,831 µg/L dans les eaux de surfaces a été rajouté.

### 3.3.2 Les produit cosmétique et d'hygiène personnelle

Pour la sélection des filtres UV, deux sources principales ont été utilisées, soit la liste des filtres ultraviolets permis en Europe et la liste des filtres ultraviolets permis au Canada. Les produits retrouvés dans les deux sources ont été sélectionnés<sup>(41)(42)</sup>.

Les composés faisant partie de la famille des parabènes ont été sélectionnés dans un revue de la littérature, selon sa présence au niveau des eau de surface<sup>(15)</sup>. Le parabène sélectionné est un intermédiaire entre les parabènes à courte de chaîne carbonée et les parabènes à longue chaîne carbonée et est un des parabènes ayant une des plus hautes fréquences de détection.

### 3.3.3 Les phtalates et substituts

Une première sélection a été effectuée selon un communiqué de veille toxicologique de l'institut national de santé publique du Québec<sup>(43)</sup>. Les composés énumérés dans la description des principaux phtalates pour usage de type commercial et industriel ont été choisis. Une deuxième sélection a été effectuée, selon une liste des composés les plus utilisés, émise par le *LOWELL CENTER FOR SUSTAINABLE PRODUCTION*<sup>(44)</sup>. Par la suite, une sélection des phtalates étant dans les deux publications, ayant un logD inférieur ou égal à la valeur limite déterminée et discutée dans le chapitre 4 a été effectuée.

Étant donné la toxicité connue pour ce type de plastifiant, plusieurs composés ont été identifiés comme alternative pour les phtalates dans les produits industriels<sup>(44)</sup>. Les produits proposés ayant un logK<sub>ow</sub> inférieur ou égale à la valeur limite déterminée ont été sélectionnés.

### 3.3.4 Les retardateurs de flamme

Quatre retardateurs de flamme phosphorés ont été sélectionnés selon leur présence dans les eaux de surfaces à travers le monde<sup>(23)(24)</sup>.

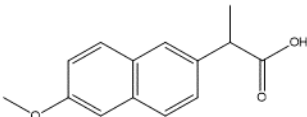
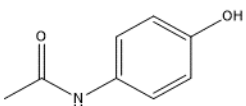
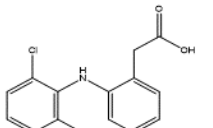
### 3.3.5 Les pesticides

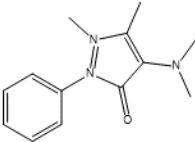
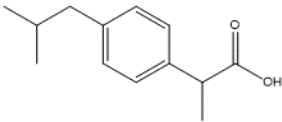
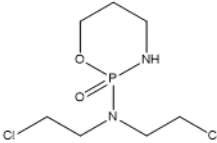
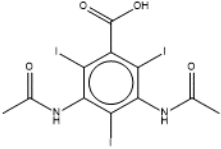
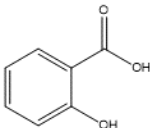
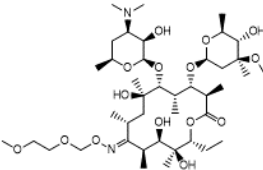
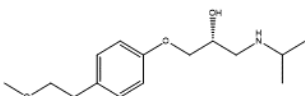
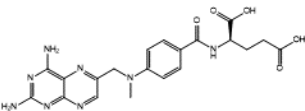
Les pesticides dans le modèle de structure ont été sélectionnés selon leur utilisation dans le secteur de l'Estrie au Québec. Cette recherche a été effectuée par le groupe de recherche du Pr. Luc Gaudreau situé dans le département de biologie de l'Université de Sherbrooke.

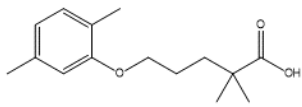
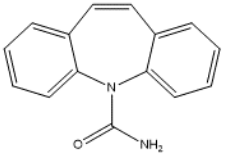
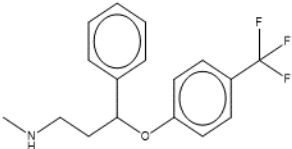
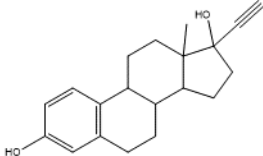
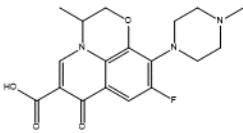
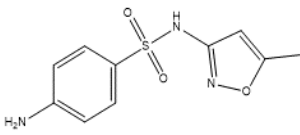
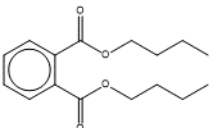
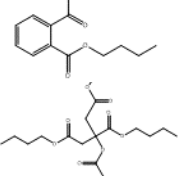
### 3.3.6 Les édulcorants artificiels

Un édulcorant artificiel a été sélectionné et ajouté au modèle de contaminants. Sa sélection a été effectuée selon les édulcorants les plus retrouvés dans les eaux de surfaces<sup>(45)</sup>.

**Tableau 1.** Contaminants modèles utilisés pour le développement de la méthode semi-ciblée.

Produit	Structure	LogD	pKa	Type de fonction
<b>Composés pharmaceutiques</b>				
Naproxène		-0,05	4.15	Acide carboxylique
Acétaminophène		0.91	.....	.....
Diclofénac		1.1	4.15	Acide

				carboxylique
Diméthylaminophénazone		1.5	3.47	Amine tertiaire
Ibuprofène		1.34	4.91	acide carboxylique
Cyclophosphamide		0.1	.....	.....
Acide diatrizoïque		-0,63	2.17	Acide carboxylique
Acide salicylique		-1,52	2.79	Acide carboxylique
Roxithromycine		1.31	9.08	Amine tertiaire
Métoprolol		1.32	.....	.....
Méthotrexate		-6,56	4,7	acide carboxylique

Gemfibrozil		1.51	4.42	acide carboxylique
Carbamazépine		2.77	.....	.....
Fluoxétine		1.83	9,8	amine secodaire
17a-éthynilestradiol		3.90	5.45/6.20	
Ofloxacin		-0,28	5.45/6.20	Acide carboxylique/amine tertiaire
Sulfaméthoxazole		0.01	1.97	amine tertiaire
<b>Plastifiants</b>				
Dibutyl phtalate		4.63	.....	.....
Benzylbutyl phtalate		5.03	.....	.....

ATBC		3.53	.....	.....
------	--	------	-------	-------

OTSA		1.09	.....	.....
------	---	------	-------	-------

TXIB		4.50	.....	.....
------	---	------	-------	-------

TDCPP		4.28	.....	.....
-------	---	------	-------	-------

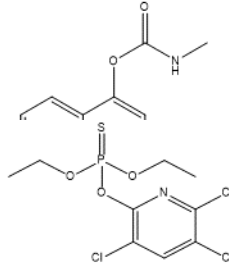
TbP		4.09	.....	.....
-----	---	------	-------	-------

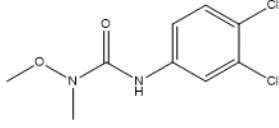
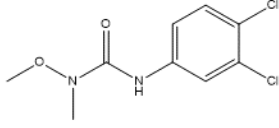
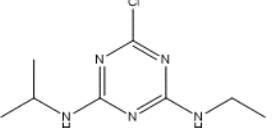
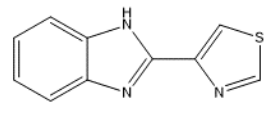
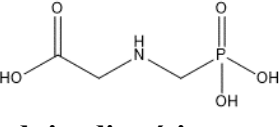
TBEP		3.94	.....	.....
------	---	------	-------	-------

TcPP		3.36	.....	.....
------	---	------	-------	-------

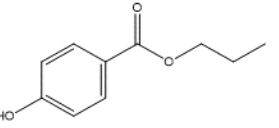
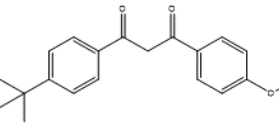
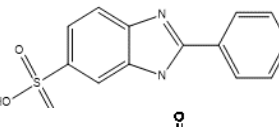
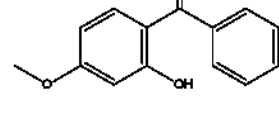
### Pesticides

2,4-D		-0,99	2.73	Acide carboxylique
-------	---	-------	------	-----------------------

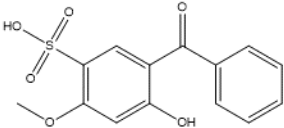
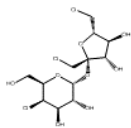
Carbaryl		2.46	.....	.....
----------	---	------	-------	-------

Chlorpyrifos		4.78	.....	.....
Linuron		2.68	.....	.....
Atrazine		2.20	3,2	Amine secondaire
Thiabendazole		2.68	4.08	benzimidazole
Glyphosate		-7,24	2.95/6.34	Amine secondaire

### Produits d'esthétique et d'hygiène personnelle

Propylparabène		2.55	.....	.....
Avobenzone		2.50	.....	.....
Ensulizole		0.09	4,45/-2,18	acide sulfonique/amine secondaire
Oxybenzone		3.13	.....	.....



Benzophénone-4		-0,44	-2,42	Acide sulfonique
Sucralose		-0,47	.....	.....

---

### 3.4 Développement chromatographique

Puisque les contaminants visés sont de nature organique, une colonne en phase inverse de type C18 a été utilisée favorisant les interactions entre les contaminants et la phase stationnaire de la colonne. L'appareil chromatographique utilisé est un UHPLC de marque Nexera (SHIMADZU, USA). La colonne chromatographique utilisée est de marque HSS-T3 (2,1 x 50mm, 1,8µm, Waters).

Un gradient allant de basse proportion de phase organique jusqu'à haute proportion de phase organique a été utilisé dans le but de pouvoir séparer et obtenir la rétention d'une large gamme de composés possédant diverses polarités. Ce gradient se décrit selon : 0 min, B 2%; 13min, B 65,7%; 19min, B 71%; 20 min, B100%; 25 min, B 100%; 26 min, B 2%; 30 min, B 2%. La température de la colonne a été établie à 25°C avec un débit des phases mobiles à 0,5 ml/min. Le volume d'injection est de 5µL

Dans le but de détecter un nombre maximal de composés, des conditions chromatographiques en mode négatif et en mode positif ont été testées à partir du gradient présenté plus haut. Comme mentionné dans la section 3,2, il a été démontré dans la littérature que les solvants utilisés pour les phases mobiles peuvent avoir une influence sur les rendements d'ionisation obtenus pour une même molécule en électro nébulisation. Ainsi, les deux solvants testés dans l'étude citée dans la section 3,2,1, soit l'ACN et le MeOH ont été sélectionnés, le but étant de trouver lequel des solvants mène au meilleur rendement d'ionisation, favorisant un taux de

faux négatifs minimum. Pour favoriser la formation des ions dans les modes positifs et négatifs d'ionisation, des additifs communs aux analyses en spectrométrie de masse, ont été sélectionnés. Pour favoriser la formation des cations en mode positif d'ionisation, l'acide formique a été utilisé. En mode négatif, l'acétate d'ammonium a été utilisé pour favoriser la formation des anions.

En résumé, les phases mobiles étudiées en mode d'ionisation positif sont l'ACN (0,1% A.F.) et le MeOH (0,1% A.F.) accompagné de H<sub>2</sub>O (0,1% A.F.). En mode négatif d'ionisation, le MeOH (1mM acétate d'ammonium) et l'ACN (1mM acétate d'ammonium) ont été testés comme phase mobile B, accompagné de H<sub>2</sub>O (1mM acétate d'ammonium) avec le même gradient utilisé en mode positif.

L'analyse des conditions testées, a été effectuée en comparant les intensités des contaminants détectés après l'analyse d'une solution contenant tous les contaminants à une concentration de 100 ug/ml dans le MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1). Cette concentration a été définie comme une concentration permettant de détecter tous les molécules modèles lors des expériences menant à la rédaction de ce mémoire. L'analyse de la même solution a été effectuée trois fois. Les intensités obtenues ont été générées en utilisant le chromatogramme de l'ion extrait (voir chapitre 2). L'algorithme n'a pas été utilisé dans le but de ne pas engendrer une variation dans les résultats obtenus, qui ne serait pas dû au développement chromatographique.

Lors du développement chromatographique, deux composés n'étaient pas commercialement disponibles pour tester leur rendement d'ionisation, soit l'OTSA et l'ensulizole.

### 3.5 Développement de la méthode MS

Le spectromètre de masse haute résolution utilisé pour la méthode, est un QqTOF (Maxis, Bruker Daltonics). Le type de source d'ionisation choisi, est une source d'ionisation par électro nébulisation, puisqu'elle permet l'ionisation d'une large gamme de composés, ayant

différentes polarités et différentes masses comme mentionné au chapitre 2. Chaque valeur du capillaire, a été fixée à un voltage minimum, permettant de détecter tous les composés modèle, tout en évitant une éventuelle saturation du détecteur par la matrice. Les valeurs sont de 2000V et 3000V en mode positif et négatif respectivement. Les valeurs du gaz de nébulisation, du gaz de séchage et de la température de séchage sont des valeurs utilisées par défaut lors du couplage d'un appareil chromatographique à la source d'ionisation par électro nébulisation de Bruker Daltonics. Ceci permet d'obtenir une ionisation optimale pour une large gamme de composés. Ces valeurs sont de 4,0 Bar, 10,0 L/min et 200°C respectivement.

Dans le but de diminuer le taux de faux négatifs, le transfert des ions vers la chambre de vol a été optimisé. La première composante permettant ce transfert, est l'analyseur quadripolaire. Pour obtenir la détection d'un nombre maximal de composés, les ions possédant un ratio de la masse sur la charge  $m/z$  de 50-1200 seront transférés par l'analyseur quadripolaire. La composante principale optimisée dans le développement de la méthode MS est la cellule de focalisation. Puisque le transfert des ions dépend des valeurs de voltages appliquées sur la cellule, deux types de voltages ont été testés, soit une valeur fixe de voltage et un balayage de voltage.

Pour définir les valeurs de voltage testées dans les différents types de voltage, la stratégie suivante a été utilisée.

Premièrement, les contaminants modèle possédant le plus petit et le plus grand ratio  $m/z$  ont été définis. Les valeurs de voltage permettant un transfert optimum de ces contaminants ont été sélectionnées comme valeur limite de la plage de voltage utilisée. Par la suite, un balayage de voltage a été effectué entre ces valeurs limites. Les résultats obtenus en termes de contaminants modèle détectés ont été comparés à une analyse en voltage fixe. La valeur de voltage fixe utilisée est la valeur centrale des valeurs limites de la plage de voltage.

Puisque le transfert des ions vers la chambre de vol dépend seulement du ratio  $m/z$  des contaminants, 6 contaminants modèle possédant différents ratios ont été utilisés pour la comparaison.

Une solution H<sub>2</sub>O/MeOH (1 :1) à 100 ng/ml des contaminants sélectionnés a été utilisée. Les composés détectés ont été analysés avec le chromatogramme de leur ion extrait pour les raisons expliquées dans la section 3,5.

### 3.6 Développement de la méthode d'extraction

Pour le développement de la méthode d'extraction, l'eau de la rivière Magog a été utilisée. Elle a été échantillonnée le 7 mai 2015, aux coordonnées géographiques suivantes : 45°16'14,4"N, 72°07'15,3"W. Trente échantillons ponctuels d'eau de surface ont été échantillonnés à environ 30 cm de profondeur, à 5 mètres du bord de la rivière. Les prélèvements ont été effectués dans un cercle d'environ 2 mètres de diamètre. Des bouteilles en polyéthylène haute densité ont été utilisées. Les échantillons ont été gardés à -80°C jusqu'à 12 heures avant la journée de l'extraction.

Pour optimiser la méthode d'extraction et évaluer ses effets sur les résultats obtenus en analyse semi-ciblée, différentes cartouches d'extraction sur phase mobile ont été testées, soit une cartouche polymérique neutre (Strata-X) et deux combinaisons de cartouches cationiques et anioniques, faibles (Strata-X-AW, Strata-X-CW) et fortes (Strata-X-A, Strata-X-C).

Dans le but de comparer les différentes cartouches utilisées, les rendements d'extractions ont été évalués pour chaque composé modèle à une concentration de 200 pg/ml dans la matrice. Cette concentration est représentative des concentrations des contaminants dans les eaux de surfaces énumérés dans les revues de la littérature, chapitre 1.

Ainsi 100 µL d'une solution à 500 ng/ml (H<sub>2</sub>O/MeOH 1:1) de chaque composé est ajoutée à trois échantillons de 250 ml d'eau de rivière. Un quatrième échantillon, servant de référence, est extrait, et l'ajout de composés est fait après l'extraction. Le pH de l'eau de rivière est ajusté avec HCl 1N jusqu'à l'obtention d'un pH de 2,5 ou 6,5, dépendamment de la cartouche utilisée. Pour la cartouche neutre, les deux pH ont été testés et le pH donnant les meilleurs rendements d'extraction a été sélectionné. Pour prévenir la formation de complexe organométallique avec les ions métalliques et les molécules organiques présentes en solution, 50 mg de l'agent complexant EDTA a été ajouté dans chaque échantillon pour obtenir une concentration finale de 0,2 mg/ml. Pour les cartouches ioniques, deux éluions ont été effectuées, soit une élution neutre avec un mélange de solvant sans additif et une élution ionique avec un solvant composé d'une base, soit le MeOH (5% NH<sub>4</sub>OH) ou d'un acide, soit le MeOH (5% A.F.). Cette stratégie a été sélectionnée dans le but de pouvoir briser les différentes interactions possibles avec la phase stationnaire de la cartouche. Les éluions pour les cartouches ioniques ont été recueillies dans deux tubes différents. Un blanc de la matrice a été extrait et analysé dans le but de ne s'assurer qu'aucun contaminant faisant partie des contaminants modèle sélectionnés, soit présent et puisse interférer dans les résultats obtenus. Lorsque des contaminants ont été détectés, l'intensité a été soustraite aux intensités des contaminants dans les échantillons dopés.

La première cartouche testée est la Strata-X, (200 mg/6 ml), de chez Phenomenex. Chaque cartouche a été conditionnée avec 5 mL ACN/MeOH (1:1) suivi de 5 mL d'eau à pH 6,5 ou pH 2,5. Par la suite, les échantillons ont été chargés à deux différents pH, soit 6,5 et 2,5, sous pression négative à un débit de 2-4 ml/min. Après le chargement, la cartouche a été lavée 2x avec 5 ml d'eau de qualité LC-MS (pH :6,5 et pH 2,5) et séchée sous pression réduite. L'élution a été faite avec 2 x 2,5 ml d'un mélange MeOH/ACN (50:50).

La deuxième cartouche testée est la Strata-X-AW, (200 mg/6ml), de chez Phenomenex. Chaque cartouche a été conditionnée avec 5 ml ACN/MeOH (50:50), suivi de 5 ml d'eau à pH 6,5. Par la suite, les échantillons ont été chargés, sous pression négative, à un débit de 2-4 ml

min à pH 6,5. Après le chargement, la cartouche a été lavée 2x avec 5 ml d'eau (25mM AmAc) et séchée sous pression réduite. L'élution a été faite avec 2x 2,5 ml d'un mélange MeOH/ACN (50:50) suivi de 2x 2,5 ml d'un mélange MeOH (5% NH<sub>4</sub>OH).

La troisième cartouche testée est la Strata-X-CW, (200 mg/6ml), de chez Phenomenex. Chaque cartouche a été conditionnée avec 5 ml ACN/MeOH (50:50) suivi de 5 ml d'eau à pH 6,5. Par la suite, les échantillons ont été chargés, sous pression négative, à un débit de 2-4 ml min à pH 6-5. Après le chargement, la cartouche a été lavée 2 x avec 5 ml d'eau (pH 6,5) et séchée sous pression réduite. L'élution a été faite avec 2x 2,5 ml d'un mélange MeOH/ACN (50:50) suivi de 2x 2,5 ml d'un mélange MeOH (5% A,F.).

La quatrième cartouche testée est la Strata-X-C, (200 mg/6ml), de chez Phenomenex. Chaque cartouche a été conditionnée avec 5 ml ACN/MeOH (50:50) suivi de 5 ml d'eau à pH 2,5 ou 6,5. Par la suite, les échantillons ont été chargés, sous pression négative, à un débit de 2-4 ml min à pH 2,5 ou 6,5. Après le chargement, la cartouche a été lavée 2 x avec 5 ml d'eau (pH 6,5) et séchée sous pression réduite. L'élution a été faite avec 2x 2,5 ml d'un mélange MeOH/ACN (50:50) suivi de 2x 2,5 ml d'un mélange MeOH (5% NH<sub>4</sub>OH.).

La cinquième cartouche testée est la Strata-X-A, (200 mg/6ml), de chez Phenomenex. Chaque cartouche a été conditionnée avec 5 ml ACN/MeOH (50 :50) suivi de 5 ml d'eau à pH 6,5. Par la suite, les échantillons ont été chargés, sous pression négative, à un débit de 2-4 ml min à pH 6,5. Après le chargement, la cartouche a été lavée 2 x avec 5 ml d'eau (25mM AmAc) et séchée sous pression réduite. L'élution a été faite avec 2x 2,5 ml d'un mélange MeOH/ACN (50:50) suivi de 2x 2,5 ml d'un mélange MeOH (5% A,F.).

Chaque échantillon a été évaporé sous courant d'azote dans le but de garder l'extrait obtenu intacte avant la reconstitution dans le solvant d'injection, à température ambiante. Le solvant de reconstitution choisi est un mélange H<sub>2</sub>O / MeOH (1:1). Ce mélange a été sélectionné dans le but de solubiliser une large gamme de composés de différentes polarités. Le volume de

reconstitution est de 300  $\mu$ L. Ce volume permet d'atteindre un facteur de concentration de 833 et est le volume minimum requis pour solubiliser l'extrait obtenu pour effectuer l'injection.

**Tableau 2.** Résumé des conditions testées pour l'optimisation de la méthode d'extraction

Étapes	Strata-X	Strata-X-CW, Strata-X-AW	Strata-X-C Strata-X-A
Conditionnement	A) 5 ml ACN/MeOH (1:1), B) 5 ml H <sub>2</sub> O pH 6.5, C) 5 ml H <sub>2</sub> O pH 2.5 (strata-X, strata-X-C)		
Chargement	pH: 6.5, 2 à 4 ml/min, pression négative		
Lavage	2 x 5 mL H <sub>2</sub> O (pH 6.5) 2 x 5mL H <sub>2</sub> O (pH 2,5)	2 x 5 mL H <sub>2</sub> O 25mM AmAc (strata-X-AW) 2 x 5 mL H <sub>2</sub> O pH 6,5 (strata-X-CW)	2 x 5 mL H <sub>2</sub> O 25mM AmAc (strata-X-A) 2 x 5 mL H <sub>2</sub> O pH 6,5 (strata-X-C)
Élution	2 x 5 mL ACN:MeOH (1:1)	A) 2 x 5 mL ACN:MeOH (1:1) B) 2 x 5 mL 5% NH <sub>4</sub> OH dans MeOH (Strata-X-AW) C) 2 x 2.5 mL 5% A.F. dans MeOH (Strata-X-CW)	A) 2 x 5 mL ACN:MeOH (1:1) B) 2 x 5 mL 5% NH <sub>4</sub> OH dans MeOH (Strata-X-AW) C) 2 x 2.5 mL 5% A.F. dans MeOH (Strata-X-CW)
Reconstitution	Évaporation N <sub>2</sub> , Reconstitution 300 $\mu$ L (H <sub>2</sub> O: MeOH)(1:1)		

### 3.7 Optimisation de la méthode d'analyse semi-ciblée

L'algorithme utilisé est l'algorithme (molecular feature) décrit au chapitre 2. Le nombre d'ions identifiés par l'algorithme dépend seulement du signal sur bruit que peuvent posséder les ions. Ainsi un signal sur bruit de 3 a été sélectionné pour obtenir la détection d'un nombre d'ions maximal.

Un coefficient de corrélation entre la masse d'un ion faisant partie d'un spectre, et la charge du composé définissant ce spectre, a été établi à 0,7. Cette valeur a été définie, car elle permet la détection de tous les composés modèle avec l'algorithme. La fonction protéomique a été désactivée. Cette désactivation permet la détection des spectres contenant d'autres atomes que l'hydrogène, le carbone, l'oxygène et l'azote.

Lors d'une étude semi-ciblée effectuée sur les eaux de surfaces de différents secteurs au Canada effectué par Segura *et al.*, une librairie contenant 264 contaminants organiques de nouvelles générations potentiellement détectables dans les eaux de surface a été utilisée<sup>(46)</sup>. Cette même librairie a été utilisée et recrée avec le logiciel *Compass Library Editor*. La masse des ions M+H et M-H et les spectres isotopiques correspondants ont été ajoutés.

Trois paramètres de corrélations des patrons isotopiques ont été sélectionnés pour juger la pertinence de l'association des spectres expérimentaux et théoriques, soit le degré de correspondance et le degré de correspondance inverse (voir chapitre 2). Pour obtenir les pointages minimums de corrélation, les composés modèle extraits de la rivière Magog avec les différentes cartouches ont été détectés avec l'algorithme et la librairie.

L'exactitude de la méthode de détection a été établie selon les connaissances déjà acquises du spectromètre de masse haute-résolution utilisé pour l'analyse. Le Q-TOF de Bruker Daltonics peut avoir une incertitude sur les masses expérimentales calculées de 4 à 5 mDa sur une période de 4 heures. Pour cette raison, l'exactitude entre les rapports de la masse sur la charge, théorique et expérimentale est de 5mDa pour la méthode de détection avec la librairie.

### 3.8 Analyse des échantillons de la rivière St-François

Dans le but de pouvoir comparer les résultats obtenus entre les différentes cartouches en extraction sur phase solide lors d'une analyse semi-ciblée, l'eau de la rivière St-François a été échantillonnée le 26 septembre 2016, aux coordonnées géographiques suivantes :45°26'56.7"N, 71°55'44.7"W. Cet endroit est situé en aval de la plus grande station d'épuration traitant les eaux usées de Sherbrooke. La station traite annuellement 26 milliards de litres d'eaux usées. Les étapes principales de traitement sont le dégrillage, le dessablage, la décantation, la biofiltration et la désinfection<sup>(47)</sup>.



Lors de l'échantillonnage, un blanc de terrain composé d'eau milli-Q a été utilisé. Les échantillons et les blancs ont été échantillonnés dans des bouteilles de polyéthylène haute densité et conservés dans la glace jusqu'au retour à l'université.

La méthode chromatographique utilisée est la même que celle décrite dans la section 3,5. Les échantillons ont été analysés en mode positif avec le MeOH 0,1% A.F. et H<sub>2</sub>O 0,1% A.F. comme phase mobile.

La méthode de spectrométrie de masse utilisée est la même que décrite dans la section 3,6. La cellule de focalisation a été utilisée en mode balayage entre des valeurs de voltages situées entre 50 Vpp et 330 Vpp en polarité positive.

L'extraction du blanc et des échantillons ont été effectués le 26 septembre 2016 avec les cartouches Strata-X, Strata-X-CW et Strata-X-AW. Trois répliquas d'eau de surface et un répliqua du blanc de terrain de 250 mL ont été utilisés pour l'extraction avec la cartouche Strata-X. Deux répliquas de l'eau de surface et un répliqua du blanc de terrain, de 250 ml, ont été utilisés pour l'extraction sur les cartouches Strata-X-AW et sur les cartouches Strata-X-CW. Le protocole utilisé pour l'extraction avec chaque cartouche est le même que celui mentionné dans la section 3,7. Un pH de 6,5 a été utilisé avec la cartouche Strata-X

Après l'analyse chromatographique couplée à la spectrométrie de masse haute résolution des échantillons, la méthode d'identification des contaminants, présentée au chapitre 2, dans la section 2.2.6 a été utilisée.

Les résultats obtenus des analyses en spectrométrie de masse haute résolution sur les échantillons extraits ont été traités avec l'algorithme (molecular feature) selon les mêmes paramètres décrits dans la section 3.8.1. Les ions M+H et M-H ont été extraits.

Une corrélation des patrons isotopiques a été effectuée entre les patrons des composés du

niveau 5 et les spectres théoriques de la librairie de contaminants pour chaque échantillon analysé. Par la suite, une soustraction des contaminants obtenus dans le blanc de terrain et dans les échantillons a été effectuée. Le pointage minimum des paramètres de corrélation est de 900.

Les analyses permettant d'élever les contaminants du niveau d'identification 2 au niveau 3 n'ont pas été effectuées dans le cadre des expériences permettant la rédaction de ce mémoire. Pour les contaminants ayant atteint un niveau de détection 4, une fragmentation des structures a été effectuée pour augmenter le niveau d'identification de chaque structure. Pour effectuer les expériences de spectrométrie de masse en tandem (fragmentation induite par collision), chaque échantillon pour un même type de cartouche a été combiné en un seul échantillon, évaporé sous N<sub>2</sub> et reconstitué dans un volume de 300 µL de MeOH/ACN (1:1). Cette recombinaison a permis d'obtenir une intensité suffisante pour la détection des spectres de fragmentation. Lors de la fragmentation, le premier quadripôle a été réglé pour avoir une fenêtre d'isolation de 1 à 10 mDa. Cette erreur permet d'avoir une intensité optimale pour la fragmentation des composés. Les spectres obtenus ont été comparés aux spectres théoriques de la librairie mzCloud.

Les composés détectés au niveau d'identification 2 et dont les standards étaient détenus, ont été élevés au niveau d'identification 1. Pour ce faire, une solution de 100 ng/ml de chaque composé individuel a été injectée dans le gradient chromatographique utilisé pour l'analyse. Les temps de rétention expérimentaux et des standards ont été comparés.

## CHAPITRE 4. RÉSULTATS ET DISCUSION

### 4.1 Analyse du modèle

Dans le but d'effectuer le développement de la méthode d'analyse, un groupe de composés modèle a été sélectionné selon les trois critères énumérés au chapitre 3. Les valeurs discutées de pKa et de LogD pour les composés modèles dans les paragraphes suivants, sont répertoriées dans la section Annexe.

Le premier critère requiert que les composés doivent faire partie des différentes catégories de contaminants de nouvelle génération. Les catégories et le nombre de composés par catégorie sont les suivants : le modèle est composé de 17 produits pharmaceutiques, 5 plastifiants, 7 pesticides, 5 produits d'esthétiques et d'hygiène personnelle, 4 produits ignifuges et 1 additif alimentaire.

Dans les produits pharmaceutiques, on retrouve : le naproxène, l'acétaminophène, le diclofénac, le diméthylaminophénazone, l'ibuprofène, le cyclophosphamide, l'acide diatrizoïque, l'acide salicylique, la roxithromycine, le métoprolol, le méthotrexate, le gemfibrozil, la carbamazépine, la fluoxétine, le sulfaméthoxazole et l'ofloxacine. La 17 $\alpha$ -éthinyloestradiol a été ajouté comme contaminant représentant la catégorie des composés oestrogéniques.

Dans les plastifiants, on retrouve : le phtalate de dibutyle (DBP), le phtalate de benzyl butyle (BBP) deux phtalates utilisés dans les plastiques. On retrouve aussi l'acétyl tributyl citrate (ATBC), l'O-toluène sulfonamide (OTSA) et le 2,2,4-triméthylpentanediol diisobutyrate (TXIB) comme plastifiant de remplacement aux composés phtaliques.

Dans la catégorie des pesticides, on retrouve l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D), le carbaryl, le chlorpyrifos, le linuron, l'atrazine le thiabendazole et le glyphosate.

Dans la catégorie des produits d'esthétique et d'hygiène personnelle, on retrouve le propylparabène, l'avobenzène, l'ensulizole, l'oxybenzène et la benzophénone-4.

Dans la catégorie des produits ignifuges, on retrouve le Tris(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate (TDCPP), le Tris(2-chloroisopropyl phosphate) (TcPP), le tributyl phosphate (TbP) et le tributoxyethyl phosphate (TBEP). Un produit dans la catégorie des additifs alimentaires a été ajouté. Dans cette catégorie, on retrouve le sucralose.

Le critère 2 utilisé dans l'élaboration du modèle stipule que les produits doivent potentiellement se retrouver dans les eaux de surface. Parmi ces catégories, seulement les produits pharmaceutiques, les produits ignifuges et les parabènes ont été sélectionnés selon leur présence dans les eaux de surface. Pour détecter la possibilité qu'un contaminant qui n'a pas été sélectionné selon sa présence dans les eaux puisse quand même s'y retrouver, les logD au pH 6.5 des contaminants, ont été pris en considération.

Puisque le logD donne une approximation de la distribution d'un contaminant dans une matrice environnementale composée d'eau et de matière organique, une valeur limite supérieure de logD doit être attribuée pour définir la probabilité de retrouver un contaminant dans les eaux de surfaces. Pour déterminer la valeur limite, la plus haute valeur de logD attribuée aux composés qui ont été sélectionnés selon leur présence dans les eaux de surfaces a été sélectionnée.

Le composé ayant la valeur maximum de logD pour ces composés est le TDCPP, un produit ignifuge, avec une valeur de 4,28. Dans le but de pouvoir avoir une diversité de structure dans la catégorie des plastifiants, cette valeur a été augmentée à 5,03. Ceci a permis d'inclure dans le modèle, le BBP, le DBP deux plastifiants de la famille des phtalates et le TXIB, un plastifiant de remplacement aux phtalates composés de deux esters. La distribution des logD pour tous les composés dans le modèle, se situe entre -7,24 et 5,03, les composés ayant ces valeurs limites étant le glyphosate et le BBP respectivement.

Le critère 3 stipule que les produits doivent fournir une diversité structurale permettant d'optimiser les conditions d'analyse pour les trois paramètres énumérés au chapitre 3, menant potentiellement à des faux négatifs.

Le premier paramètre mentionné est le transfert des ions dans la chambre de vol du spectromètre de masse par la cellule de focalisation. Puisque ce transfert dépend uniquement des valeurs de voltage permettant le transfert des ions possédant différents ratio  $m/z$ , le modèle doit être composé de contaminants ayant différentes masses. Dans cette optique, les composés modèle possèdent des masses exactes se situant entre 138,0311 Da et 836,5240 Da. Ces masses limites sont attribuées à l'acide salicylique et la roxythromicine respectivement. Pour s'assurer que cet intervalle soit représentatif des contaminants pouvant se retrouver dans les eaux de surface, toutes les masses exactes des contaminants présents dans les références utilisées pour construire le modèle, ont été prises en considération. Ces valeurs englobent tous ces composés.

Le deuxième paramètre mentionné est la méthode chromatographique. Puisque différentes polarités d'ionisation ont été sélectionnés, il est important que le modèle soit composé de contaminants possédant des fonctions chimiques permettant l'obtention de différents ions dans ces deux modes d'ionisation. Parmi les contaminants sélectionnés, 12 composés possèdent des fonctions acides permettant la formation potentielle d'anions. Parmi ces composés, on retrouve le naproxène, le diclofénac, l'ibuprofène, l'acide diatrizoïque, l'acide salicylique, le gemfibrozile, le méthotrexate, l'ofloxacine et le 2,4-D possédant des fonctions acides carboxyliques. Le glyphosate possède deux fonctions acides, soit une fonction acide carboxylique et une fonction acide phosphonique. On retrouve aussi la benzophénone-4 et l'ensulizole possédant des fonctions acides sulfoniques. L'intervalle de  $pK_a$  pour les fonctions acides est de -2,42 à 5,45. Le modèle est aussi constitué de 9 composés possédant des fonctions basiques dans le même intervalle de pH. Parmi ces composés, on retrouve le diméthylaminophénazone, la roxithromycine, le sulfaméthoxazole et l'ofloxacine qui

possèdent des amines tertiaires. On retrouve aussi l'atrazine et le glyphosate le thiabendazole et l'ensulizole ayant des fonctions amines secondaires. Le modèle est aussi constitué de 9 composés possédant des fonctions basiques. Parmi ces composés, on retrouve le diméthylaminophénazone, la roxithromycine, le sulfaméthoxazole et l'ofloxacin, possédant des amines tertiaires. On retrouve aussi l'atrazine et le glyphosate le thiabendazole et l'ensulizole ayant des fonctions amines secondaires. Parmi ces composés, trois composés modèle possèdent une fonction acide et une fonction basique, soit le l'ensulizole, l'ofloxacin et le glyphosate. Les intervalles des pKa pour les fonctions basiques sont de 1,97 à 9,80 respectivement.

Les caractéristiques structurales énumérées au paragraphe précédent sont aussi à considérer pour l'optimisation du troisième paramètre, soit la méthode d'extraction. Pour définir les conditions d'extraction et comparer les cartouches, il est important que le modèle soit composé d'une diversité structurale permettant d'obtenir les différentes interactions favorisant la rétention sur les adsorbants polymériques testés en extraction sur phase solide. Ainsi, les fonctions basiques et acides permettront l'obtention des ions nécessaires pour obtenir les interactions ioniques. De plus, 71% des contaminants modèle possèdent des liens  $\pi$ , et 100 % des composés possèdent des liens C-C, sigma, permettant l'obtention des interactions hydrophobes  $\pi$ - $\pi$  et de van der Waals.

#### 4.2 Analyse de la méthode chromatographique et rendement d'ionisation

Dans le cadre du développement de la méthode d'analyse, une méthode chromatographique a été développée en phase inverse. Le but du développement chromatographique en analyse semi-ciblée, est d'obtenir une répartition des molécules sur tout le gradient chromatographique, défavorisant le phénomène de suppression d'ionisation, détaillé au chapitre 2. Il est aussi nécessaire d'obtenir la rétention d'un nombre maximum de composés sur la colonne chromatographique dans le but d'abaisser le taux de faux négatifs.

Le gradient testé a été le suivant : 0 min, B 2% , 19 min, B 71 %, 20 min, B 100%, 25 min, 100%, 26 min 2% B, 32 min 2% B, ou la phase mobile A est H<sub>2</sub>O 0,1% A.F. et H<sub>2</sub>O 1 mM AmAc pour les modes positif et négatif respectivement. Ce gradient permet d'obtenir une répartition des composés modèles et de minimiser la suppression d'ionisation complète des composés. Les résultats obtenus pour la chromatographie sont présentés au tableau 3 en terme de la répartition des composés modèle dans le gradient chromatographique en fonction du temps.

**Tableau 3.** Répartition des composés modèles en fonction du temps dans le gradient chromatographique en mode positif et négatif.

<b>Temps (min)</b>	<b>[0-2]</b>	<b>]2-7]</b>	<b>]7-14]</b>	<b>]14-20,5]</b>
Mode positif	1	9	16	13
Mode négatif		4	7	1

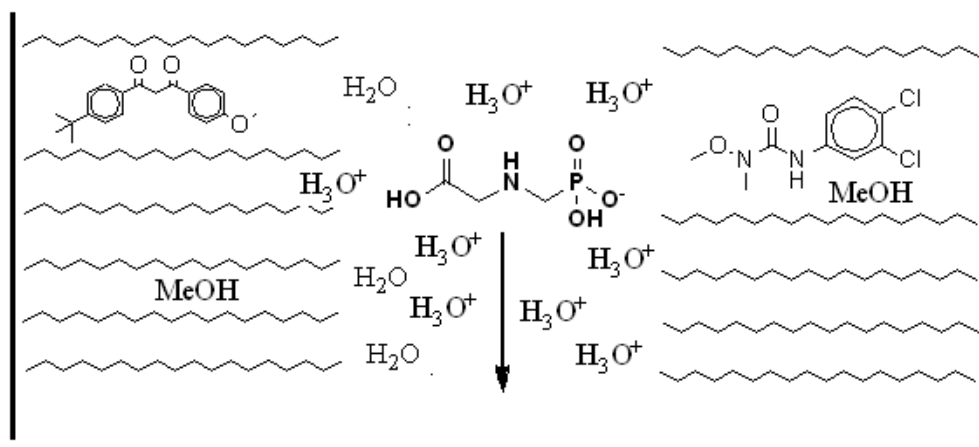
En développant un gradient qui commence par un bas pourcentage de phase organique, la rétention de la majorité des composés les plus polaires a été effectuée, puisque 38 composés sur 39 ont été détectés. Il est aussi à noter que le gradient a mené à une répartition des composés défavorisant la suppression d'ionisation puisque tous les composés ont été détectés en mode positif. Le nombre inférieur de composés détectés dans le gradient en mode négatif est dû à la formation des anions dans le mécanisme d'électronébulisation. En effet, seulement 12 composés sur 38 ont été détectés en mode négatif.

Le composés situés entre 0 et 2 min dans le gradient en mode positif est le glyphosate, et a été détecté dans le front de solvant. Le front de solvant étant la première fraction de la phase mobile qui sort de la colonne chromatographique, elle est souvent constituée des composés non retenus par la colonne ainsi que plusieurs sels pouvant endommager la source d'ionisation

du spectromètre de masse. C'est pourquoi, cette partie de la chromatographie n'est pas analysée. Pour cette raison, la détection du glyphosate n'a pas été considérée.

La présence du glyphosate dans le front de solvant peut être expliquée par différents concepts de chromatographie. Il est connu que la rétention des composés sur une colonne chromatographique dépend de trois types d'interaction, soit l'interaction entre la phase stationnaire et le soluté, l'interaction entre la phase mobile et le soluté et l'interaction entre la phase mobile et la phase stationnaire<sup>(34)</sup>. Lors de l'injection des composés dans la tête de la colonne chromatographique, la composition de la phase mobile est de 98 % en H<sub>2</sub>O (0,1 % A.F.) et 2 % MeOH (0,1% A.F.). L'interaction entre la phase stationnaire organique (apolaire) et la phase mobile aqueuse (polaire) est minimale, c'est-à-dire que l'eau interagit peu avec les chaînes carbonées C<sub>18</sub>. Les interactions des solutés avec la phase stationnaire et la phase mobile aqueuse, sont maximales et minimales respectivement. Plus précisément, les molécules possédant un squelette carboné interagissent par des forces de van der Waals avec la colonne C<sub>18</sub> et très peu avec la phase mobile aqueuse. C'est la somme de ces interactions, qui permet de retenir la majorité des composés dans la tête de la colonne lors de l'injection. Le pH associé à la composition de la phase mobile lors de l'injection des composés se situe approximativement à 2,6 pour le gradient testé avec l'acide formique. Le log D à pH 2.6 du glyphosate est de -3,4, ce qui représente une distribution 2511 fois plus grande dans la phase aqueuse que dans l'octanol. Cela suggère que l'interaction du glyphosate avec la colonne C<sub>18</sub>(phase organique) est minimale. Le glyphosate étant une petite molécule (169 Da) ne possédant que seulement 2 carbones, les interactions de van der Waals avec les chaînes de carbone sont très peu présentes. Par contre, les fonctions acides favorisent les interactions de type pont hydrogène avec la phase mobile (phase aqueuse), ce qui explique que le glyphosate ne soit pas retenu par la colonne C<sub>18</sub>. Ce mécanisme est représenté à la figure 11. Ce résultat démontre que le type de colonne chromatographique utilisée pour l'analyse semi-ciblée peut influencer le taux de faux négatifs dans l'analyse. En effet, les composés possédant un logD près de la valeur du glyphosate (-3,4) pourraient ne pas être retenus par la colonne et analysés par le spectromètre de masse.

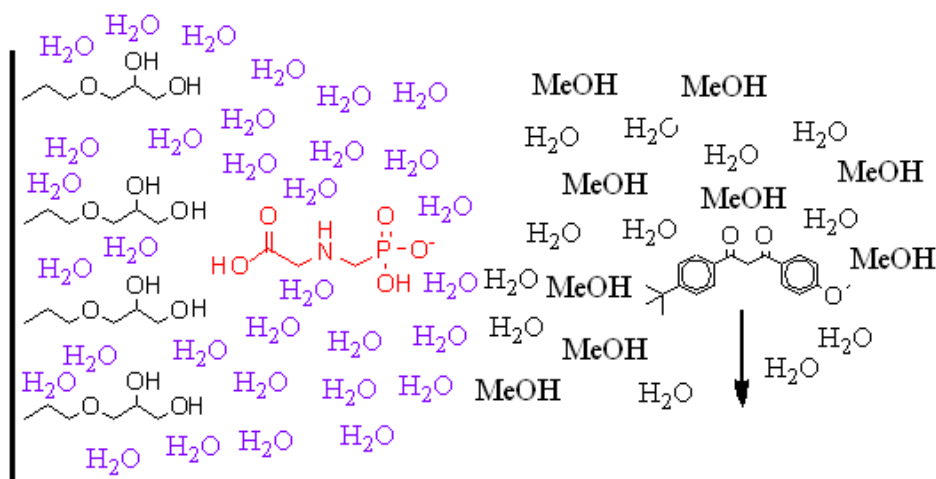




**Figure 11.** Représentation du glyphosate éluant dans le front de solvant sur une colonne chromatographique en phase inverse où les chaînes C18 sont la phase stationnaire et les molécules d'eau sont la phase mobile.

Il serait alors important de développer un autre type de chromatographie avec un modèle de composés ayant des logD inférieur à 0. Ceci pourrait permettre l'analyse des contaminants les plus polaires et abaisser le taux de faux négatifs dus à la chromatographie.

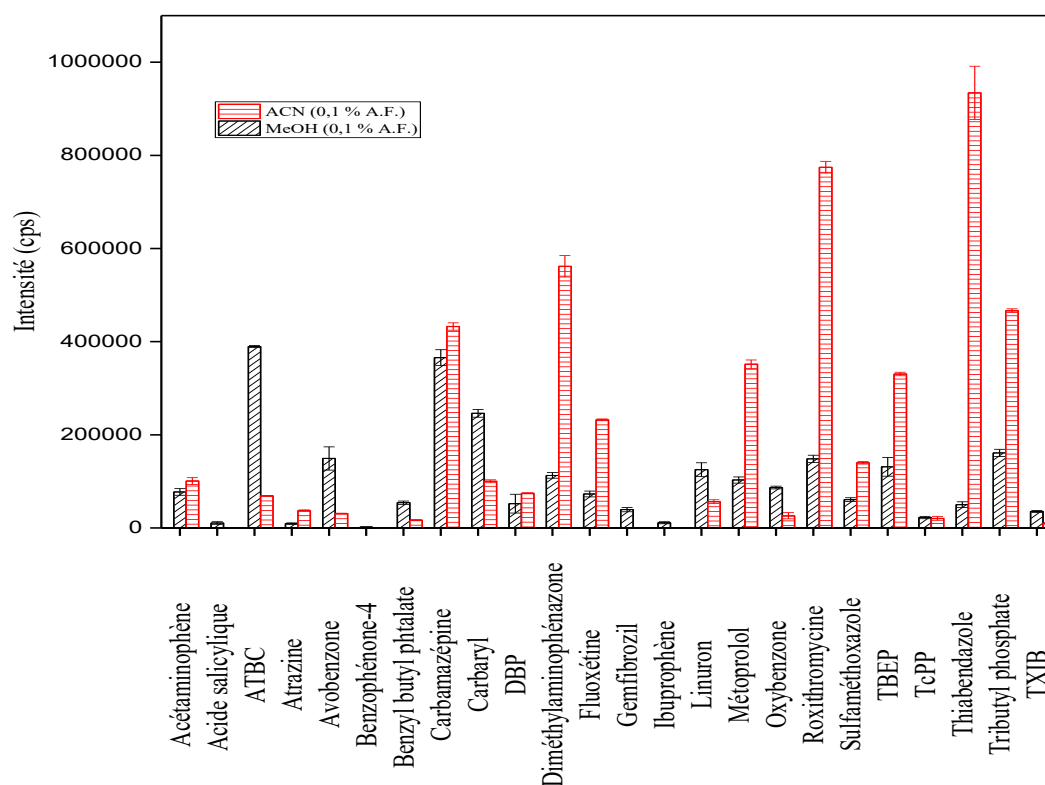
Les colonnes de type HILIC pourraient être une approche intéressante pour résoudre ce problème. La phase stationnaire est constituée d'un gel de silice auquel est greffé des molécules organiques possédant des fonctions polaires. L'élution se fait en utilisant un gradient qui augmente la polarité de la phase mobile. Plusieurs mécanismes pour expliquer la séparation des composés dans ce type de chromatographie, sont définis dans la littérature. Par exemple, un mécanisme est proposé et illustré à la figure 12, où une couche d'eau immobile se formerait à la surface de la phase stationnaire recouverte d'une portion de la phase mobile contenant l'eau et le solvant organique. Ainsi plus les composés sont polaires, plus ils ont tendance à se distribuer dans la couche d'eau immobile, interagir avec la phase stationnaire, et se séparer des composés les moins polaires<sup>(48)</sup>.



**Figure 12.** Représentation du mécanisme de rétention du glyphosate sur une colonne chromatographique de type HILIC.

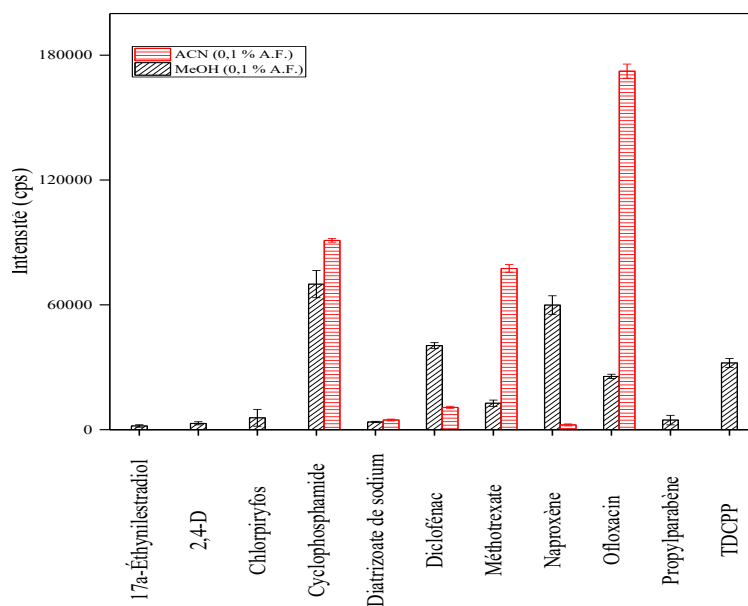
Comme mentionné au chapitre 3, deux types de phases mobiles B (organique) ont été testés dans les deux modes d'ionisation. Les solvants sont l'ACN (0,1% A.F) et le MeOH (0,1% A.F.) en mode positif et l'ACN (1mM AmAc) et le MeOH (1 mM AmAc) en mode négatif. Ainsi le solvant favorisant l'ionisation du plus grand nombre de composés, mènera à un taux de faux négatifs inférieurs et sera sélectionné comme phase mobile pour la méthode d'analyse. Les intensités obtenues pour chaque composé modèle dans les différents modes sont représentées aux figures 13 et 14.

En mode positif, le MeOH (0,1% A.F.) a permis la détection de 36 composés sur 36 comparativement à l'ACN (0,1% A.F.) ou 30 composés sur 36 n'ont pas été détectés. Les composés qui n'ont pas ionisé sont les suivants : la benzophénone-4, le gemfibrozil, l'ibuprophène, l'acide salicylique, la 17 $\alpha$ -éthynilestradiol, le 2,4-D, le chlorpyrifos, , le propylparabène, et le TCPP.

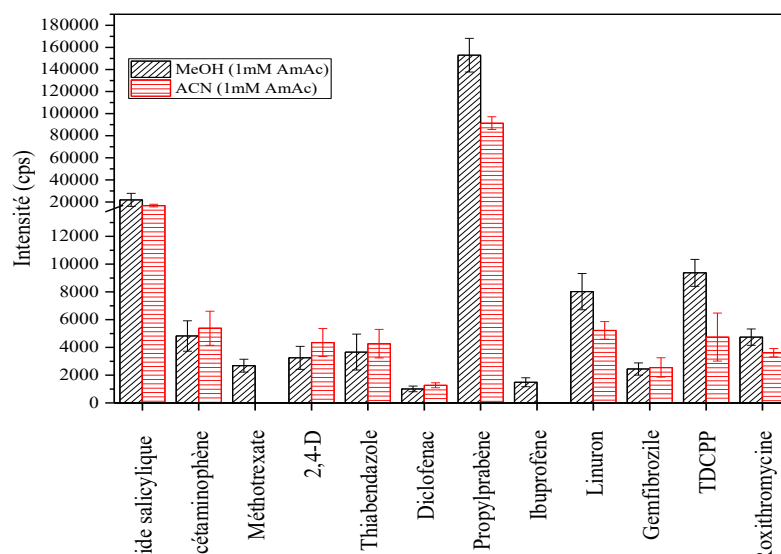


**Figure 13.** Intensité d'ionisation pour les contaminants modèle ayant le plus ionisés en utilisant le MeOH 0,1% A.F. et ACN 0,1% A.F. comme phase mobile B

En mode négatif, le MeOH (1 mM AmAc) a permis la détection de 12 composés sur 36 et l'ACN (1 mM AmAc) a permis la détection de 10 composés sur 36. Les composés qui ont ionisé avec le MeOH (1 mM AmAc) sont les suivants : l'acide salicylique, l'acétaminophène, la roxithromycine, le 2,4-D, le thiabendazole, le diclofénac, le propylparabène, le TDCPP, le linuron, le gemfibrozil, l'ibuprofène et le méthotrexate. Les mêmes composés ont été détectés dans l'ACN (1 mM AmAc) mises à part l'ibuprofène et le méthotrexate. En fonction de ces résultats, le MeOH (0,1% A.F.) et le MeOH (1mM AmAc) ont été sélectionnés comme phases mobiles B.



**Figure 14.** Intensité d'ionisation pour les contaminants modèle ayant le moins ionisés en utilisant le MeOH 0,1% A.F. et ACN 0,1% A.F. comme phase mobile B



**Figure 15.** Intensité d'ionisation pour les contaminants modèle en utilisant le MeOH 1 mM AmAc et ACN 1mM AmAc, comme phase mobile B en mode négatif.

Il est important de prendre en compte qu'en mode négatif, les résultats obtenus diffèrent des résultats attendus. Lors de l'établissement du modèle, 11 composés (excluant le glyphosate) possédant des acides carboxyliques ont été sélectionnés en prévision de leur ionisation en mode négatif. Seulement 6 de ces composés ont été détectés avec la méthode impliquant le MeOH (1 mM ammonium acétate) et seulement 4 composés avec l'ACN (1mM AmAc). Des expériences similaires pour expliquer les facteurs qui influencent les rendements d'ionisation en électronébulisation ont déjà été effectuées dans la littérature. Par exemple, des études ont démontré les effets des différents solvants organiques comme phase mobile B en ionisation par électronébulisation en mode négatif<sup>(49)</sup>. Ils ont démontré avec un modèle de 48 molécules organiques incluant des composés phénoliques, des acides carboxyliques, des dérivés de stéroïdes et d'aniline, que 83% des composés avaient un meilleur rendement d'ionisation dans un solvant protique que aprotique. Pour expliquer cette tendance, ils ont considéré qu'un anion sera mieux stabilisé par un solvant protique qu'aprotique, ce qui aide à sa formation dans les gouttellettes de phases mobiles créées lors du mécanisme d'électronébulisation. Cette explication pourrait expliquer pourquoi le MeOH, un solvant protique a permis la détection d'un plus grand nombre de composés comparativement à l'ACN, un solvant aprotique.

On peut aussi remarquer que pour certaines molécules possédant des acides carboxyliques, comme le naproxène, l'a benzophénone-4 l'ofloxacine et l'acide diatrizoïque, la détection en mode négatif n'a pas eu lieu peu importe le solvant utilisé. Cela suggère que la stabilisation de l'ion ne peut être le seul facteur qui influence le rendement d'ionisation. Il a été démontré que d'autres facteurs que la nature du solvant utilisé peut influencer le rendement d'ionisation. Par exemple, un groupe de recherche a démontré que différents facteurs comme le  $\log K_{ow}$ , les pKa des hydrogènes acides et la présence d'une portion non polaire sur la molécule, peuvent influencer le rendement d'ionisation<sup>(39)</sup>. Il a aussi été démontré que l'intensité de l'ionisation détectée peut être due à un seul facteur, mais peut aussi être due à une somme de différents facteurs interagissant dans le mécanisme d'ionisation. Notamment, ils ont démontré que pour un même solvant, plus les pKa des fonctions acides diminuaient, plus

l'intensité d'ionisation augmentait, laissant croire que la formation des ions serait due à une plus grande acidité des hydrogènes<sup>(39)</sup>. Par contre, cette tendance n'a pas été observée pour toutes les molécules étudiées. Il a été observé que pour certaines molécules possédant des fonctions acides ayant les mêmes valeurs de pKa, l'intensité pouvait varier considérablement, démontrant que plusieurs facteurs pouvaient interagir sans toutefois pouvoir les identifier.

Cette observation refait surface avec le modèle utilisé pour développer la méthode non ciblée et sont résumés dans le tableau 4. Les cinq composés possédant des acides carboxyliques, et n'ayant pas ionisé dans les deux types de solvants testés, possèdent des pKa se situant entre -2,42 et 5,45. Cet intervalle englobe les valeurs de pKa des composés acides ayant été détectés. On peut aussi observer que l'ensulizole et la benzophénone-4, étant les composés les plus acides du modèle et ayant des valeurs de pKa négatif n'ont pas été détectés comparativement à d'autres composés comme l'acétaminophène, la roxithromycine, le propylparabène, le linuron et le thiabendazole possédant des hydrogènes relativement acides dans un intervalle de pKa se situant entre 8,50 et 12,93. Il est à noter que le TDCPP ne possédant pas de fonctions acides, a aussi été détecté en mode négatif. Il devient alors complexe d'établir quels facteurs expliquent les rendements d'ionisation obtenus, et cela dépasse le cadre du développement de l'analyse semi-ciblée. Ces facteurs sont des caractéristiques propres aux molécules analysées et ne sont pas contrôlables lors du développement des paramètres de l'analyse, ce qui peut influencer le taux de faux négatifs obtenus. Par contre, ils ouvrent la voie vers la possibilité d'étudier l'effet de l'utilisation de diverses sources d'ionisation, impliquant des mécanismes différents et permettant de voir si les résultats obtenus pour des échantillons réels diffèrent en fonction des sources d'ionisation utilisées.

En mode positif, le MeOH a mené à l'ionisation de toutes les molécules du modèle, comparativement à l'ACN. L'hypothèse de la stabilisation de l'ion peut être utilisée pour expliquer ce phénomène. Par contre, on peut observer le même phénomène qu'observé en mode négatif, soit une meilleure ionisation pour 37 % des molécules avec l'ACN. Encore une

fois, l'interaction des différents facteurs influençant les rendements d'ionisation en électrobulbion suggérée dans le paragraphe plus haut, peut être une explication de ces résultats. Malgré le plus grand nombre de molécules détectées dans le MeOH, il serait pertinent de comparer les deux types de solvant utilisés avec des échantillons réels.

**Tableau 4.** Contaminants modèles détectés et non détectés en mode négatif et pKa de leur hydrogène le plus acide.

Composés	pka des hydrogènes acides	Détectés	Non détectés
Benzophénone-4	-2,42		x
Acide diatrizoïque	2,17		x
2,4-D	2,73	x	
Acide salicylique	2,79	x	
Méthotrexate de sodium	3,25	x	
Naproxène	4,15		x
Diclofénac	4,15	x	
Gemfibrozile	4,42	x	
Ibuprofène	4,91	x	
Ofloxacin	5,42		x
Propylparabène	8,5	x	
Acétaminophène	9,46	x	
Thiabendazole	10,28	x	
Linuron	11,94	x	
Roxithromycine	12,93	x	
TDCPP	.....	x	

#### 4.3 Analyse de la méthode de spectrométrie de masse

Dans le but d'obtenir la détection d'un plus grand nombre de composés possible, le voltage de la cellule de focalisation a été optimisé, permettant d'obtenir un transfert optimal des ions en fonction de leur ratio masse sur charge ( $m/z$ ). Deux modes ont été comparés soit le mode de voltage fixe et le mode de voltage en balayage. Puisque ces paramètres influencent la détection des composés en fonction du ratio de la masse sur la charge, seulement 9 composés (salicylic acid, acétaminophène, OTSA, gemfibrozil, sulfaméthoxazole, fluoxétine,

avobenzon, diatrizoate de sodium, roxithromycine), couvrant des ratios de masse sur la charge allant de 138,0311 (salicylic acid) à 836, 5240 (roxithromycine) ont été sélectionnés pour l'optimisation.

Pour déterminer les valeurs expérimentales pour les deux modes de voltage testés, les contaminants possédant la plus petite et la plus grande masse du modèle ont été sélectionnés soit l'acide salicylique et la roxithromycine respectivement. Les valeurs optimales de voltage fixe ont été optimisées en fonction de ces contaminants. Les valeurs obtenues sont de 190 Vpp et 330 Vpp. Cette optimisation permet d'obtenir, par exemple, le voltage (330 Vpp) pour lequel, toutes les molécules ayant des masses voisines de la roxithromycine, auront un transfert optimal vers la chambre de temps de vol. Au contraire, les molécules ayant des valeurs  $m/z$  éloignées de celle de la roxithromycine ( $m/z$  836,5240) ne seront pas détectées au voltage fixe de 330 Vpp. Ainsi, ces valeurs délimitent le domaine de voltage pour la détection des ions ayant des  $m/z$  entre ceux de la roxithromycine et l'acide salicylique.

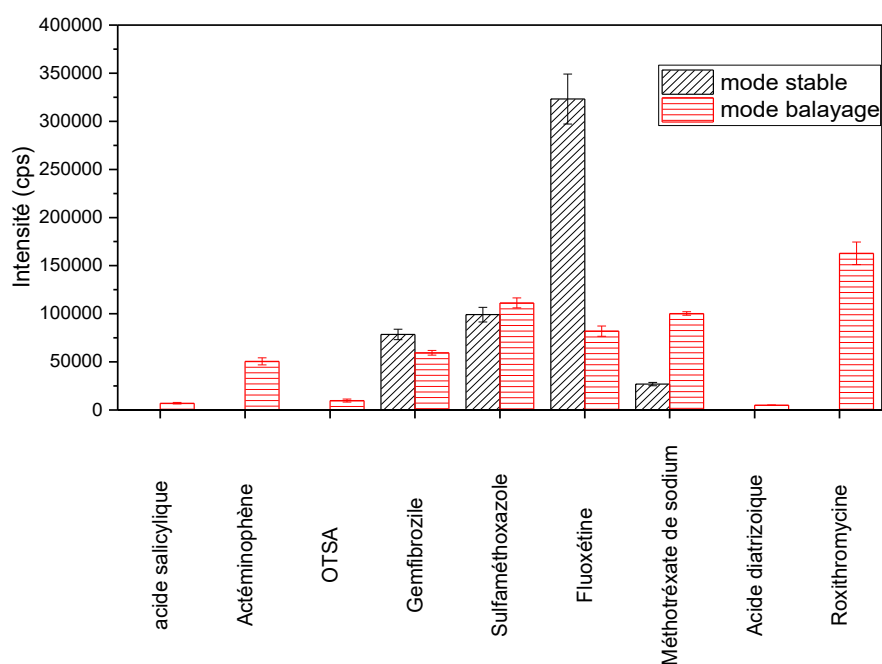
Par la suite le voltage en balayage et le voltage en valeur fixe ont été comparés pour les molécules nommées plus haut. Le balayage de voltage a été effectué entre les valeurs de 190 Vpp et 330 Vpp. La valeur de voltage fixe a été déterminée en fonction de la valeur centrale du domaine de voltage pour la roxithromycine et l'acide salicylique. Une valeur de 260 Vpp a été testée comme valeur de voltage fixe.

Les résultats obtenus en fonction des différents modes sont représentés sur la figure 16. Le mode de voltage fixe a permis seulement la détection des composés ayant des  $m/z$  situés entre 250 et 456, soit le gemfibrozile, le sulfaméthoxazole, la fluoxétine et le méthotrexate. Les composés situés entre  $m/z$  138 et 173, soit l'acide salicylique l'acétaminophène et l'OTSA n'ont pas été détectés. Ce résultat est représentatif de l'utilisation d'une valeur fixe de voltage. Les ions ayant des ratios à l'extérieur du domaine des ratios  $m/z$  transférables vers la chambre de temps de vol, à la valeur de 260 Vpp ne sont pas transférés. La même observation



a été effectuée pour les composés situés entre  $m/z$  613 et 837, soit le diatrizoate de sodium et la roxithromycine.

En revanche, le mode de balayage a permis la détection de tous les composés testés, prouvant que ce mode est celui qui permet le transfert d'un plus grand intervalle de ratio de la masse sur la charge. Par contre, il est important de mentionner que ce mode a abaissé les intensités des signaux obtenues pour la fluoxétine et le gemfibrozile ce qui présente un désavantage. Puisque l'objectif du développement de la méthode est d'abaisser le nombre de faux négatifs, le mode en balayage de voltage a été sélectionné car il permet la détection d'un plus grand nombre de composés.



**Figure 16.** Détection des contaminants modèle en fonction du mode de voltage en balayage et du mode de voltage stable pour la cellule de focalisation.

#### 4.4. Analyse de la méthode d'extraction

Pour optimiser la méthode d'extraction et évaluer si les cartouches utilisées peuvent mener à des différences dans les résultats obtenus, différentes cartouches d'extraction sur phase mobile

ont été testées, soit une cartouche polymérique de phase inverse (Strata-X) et deux combinaisons de cartouches d'échangeuse d'ions, ayant des fonctionnalités d'échange anionique et cationique faibles (Strata-X-AW, Strata-X-CW) et fortes (Strata-X-A, Strata-X-C). Puisque les cartouches ioniques possèdent des fonctions chimiques de polarités différentes et complémentaires, il a été considéré que ces cartouches ne peuvent être utilisées seules lors d'une analyse semi-ciblée. Dans la majorité des cas, un même composé a été détecté deux fois pour un couple de cartouches. Pour simplifier la discussion qui suit, les rendements discutés sont les rendements les plus hauts obtenus pour une des deux cartouches faisant partie des combinaisons.

Pour pouvoir comparer les cartouches entre elles, une classification des composés modèle selon leur rendement d'extraction a été établie. Les résultats obtenus sont représentés au tableau 5. Les composés ayant un rendement se situant entre 100% et 70% se caractérisent par un rendement fort. Les composés ayant un rendement se situant entre 70% et 20% se caractérisent par un rendement moyen. Les composés ayant un rendement se situant entre 20% et 0% se caractérisent par un rendement faible et les composés ayant un rendement de 0% se caractérisent par un rendement nul. Les composés non-ionisés sont ceux qui n'ont pas été détectés dans l'échantillon fortifié après l'extraction à la concentration de 100 ng/ml. Cette non détection est due à la suppression d'ionisation causée par les molécules de la matrice. En effet, les composés injectés à la même concentration dans le MeOH ont été détectés démontrant la diminution du rendement d'ionisation causée par les molécules présentes dans l'eau de surface. Lors du classement des composés dans les classes de rendement d'extraction, la variation de chaque rendement a été considérée. La valeur du rendement d'extraction soustrait de sa variation a été utilisée pour effectuer le classement.

Pour l'extraction à pH 6,5, 27 composés possèdent un rendement d'extraction fort, 5 composés possèdent un rendement d'extraction moyen et 3 composés possèdent un rendement d'extraction faible. 2 composés ont obtenu un rendement d'extraction nul soit le 2,4-D, le diatrizoate de sodium. Un composé n'a pas ionisé soit, la 17 $\alpha$ -éthinyloestradiol (voir tableau

5). Ce composé est un des composés modèle ayant un des plus faibles rendements d'ionisation dans le MeOH. En présence des composés de la matrice, l'ionisation de ce composé a potentiellement été affectée par les mécanismes décrits au chapitre 2 et rend sa détection impossible.

Comparativement à l'extraction à pH 6,5, les rendements d'extractions à pH 2,5 n'ont pu être évalués. Ceci s'explique par l'obtention d'un résidu chargé en matrice après l'évaporation sous azote du solvant d'élution. Ce résidu devant être reconstitué dans 300 µL de solvant pour l'injection, ceci mène à des échantillons en forte concentration de matrice et pouvant endommager les appareils servant à effectuer l'analyse. Le même résultat a été obtenu lors de l'extraction à pH 2,5 avec la cartouche Strata-X-C, dans la fraction d'élution au MeOH/ACN. Dans le but de préserver l'équipement d'analyse, les échantillons n'ont pas été analysés pour les deux types de cartouche.

L'extraction effectuée avec les cartouches ioniques faibles soit la Strata-X-AW et la Strata-X-CW a permis de récupérer 32 composés possédant un rendement d'extraction fort, 1 composé possédant un rendement d'extraction moyen et 2 composés possédant un rendement d'extraction faible. Les composés possédant un rendement d'extraction nul avec la Strata-X, soit le 2,4-D et le diatrizoate de sodium possèdent le même rendement avec les cartouches ioniques faibles. Les résultats obtenus avec la Strata-X pour la 17 $\alpha$ -éthinyloestradiol ont été répétés pour les cartouches ioniques faibles.

L'extraction avec les cartouches ioniques fortes, soit la Strata-X-A-a et la Strata-X-C a permis d'obtenir un rendement similaire aux rendements obtenus avec les cartouches ioniques faibles. 29 composés ont obtenu un rendement d'extraction fort, 4 composés un rendement d'extraction moyen, 2 composés un rendement d'extraction faible et 1 composé avec un rendement d'extraction nul, soit la benzophénone-4. Par contre, ce type de cartouches a permis l'extraction du 2,4-D et du diatrizoate de sodium. Ces deux composés ont obtenu un rendement fort avec ce type de cartouches. La 17 $\alpha$ -éthinyloestradiol n'a pas été détecté avec

les cartouches ioniques faibles.

Face à différentes méthodes d'extraction en phase solide dans la littérature, les résultats obtenus dans les conditions d'extraction mentionnées sont satisfaisants. Par exemple, José Robles-Molina *et al.*, ont développé une méthode d'extraction sur phase solide couplée à une analyse LC-MS pour les contaminants émergents dans différents types d'eau<sup>(50)</sup>. Ils ont choisi 430 contaminants modèles qu'ils ont extrait avec une cartouche Strata-X à pH neutre suivi d'une élution avec le MeOH. Dans ces conditions, ils ont obtenu 35 % des composés ayant un rendement d'extraction fort (70%-128%), 49% des composés possédant un taux d'extraction moyen (30%-70%) et 15 % des composés ayant un taux d'extraction faible (inférieur à 30 %). Les reste des composés n'a pas été extrait. Comparativement, chacune des cartouches testées dans ce mémoire ont mené à extraire plus de composés avec des rendements d'extraction forts. Si on compare seulement les cartouches strata-X, on peut penser que l'ajout de l'acétonitrile (solvant plus apolaire que le MeOH), dans le solvant d'élution permet de rompre plus efficacement les liaisons hydrophobes qui retiennent les composés sur la cartouche, menant globalement à un taux d'extraction supérieur pour les contaminants. Pour les cartouches ioniques, il est difficile de pouvoir comparer ces résultats, car les liaisons en jeu dans le processus d'extraction ne sont pas les mêmes. Joonas Nurmi *et al.*, ont aussi comparé une extraction en phase solide avec des cartouches neutres et ioniques faibles vis-à-vis 84 contaminants modèles<sup>(51)</sup>. Dans cette étude, leurs résultats démontrent que 37 composés possèdent de meilleurs rendements avec la cartouche non polaire comparativement à 24 composés avec la cartouche ionique.

Comparativement il y a peu de différence dans les résultats obtenus entre les différentes cartouches utilisées dans ce mémoire. La Strata-X est la cartouche possédant le moins de composés avec un rendement d'extraction fort. Par contre cette différence est seulement de 4 composés avec les ioniques faibles et de 2 composés avec les ioniques fortes, respectivement. Le résultat le plus intéressant dans ces différences, est l'obtention d'un rendement fort pour le

**Tableau 5.** Rendement d'extraction en pourcentage pour les contaminants modèle sur les différentes cartouches testées.

Contaminants	strata-x	strata-x-aw	strata-x-cw		strata-x-a		strata-x-c
	MeOH/ACN	MeOH/ ACN	MeOH( NH <sub>4</sub> OH)	MeOH/ ACN	MeOH (A.F.)	MeOH/ACN	MeOH (NH <sub>4</sub> OH)
Naproxen	97 ± 3	19 ± 48	71 ± 10	103 ± 8	0	0	96 ± 4
Acetaminophen	30 ± 3	42 ± 12	0	50 ± 3	0	35 ± 1	0
Diclofenac	94 ± 5	0	90 ± 7	101 ± 8	0	0	108 ± 7
Dimethylaminophenazone	99 ± 14	90 ± 5	0	106 ± 2	0	83 ± 9	0
Ibuprophen	91 ± 10	50 ± 7	0	99 ± 7	0	0	94 ± 10
cyclophosphamide	99 ± 9	101 ± 4	0	99 ± 3	0	98 ± 1	0
Diatrizoate	0	0	0	0	0	0	85 ± 9
Salicylic acid	80 ± 5	106 ± 4	0	93 ± 8	0	114 ± 9	0
Roxithromycin	86 ± 4	86 ± 2	0	nd	nd	92 ± 1	0
Metoprolol	84 ± 5	85 ± 3	0	0	91 ± 2	96 ± 5	0
Methotrexate	36 ± 10	0	105 ± 2	0	0	0	86 ± 8
Gemfibrozil	98 ± 6	88 ± 3	0	89 ± 6	0	0	104 ± 2
Carbamazepine	99 ± 8	100 ± 2	0	104 ± 9	0	103 ± 5	0
Fluoxetine	84 ± 4	53 ± 14	36 ± 12	0	84 ± 1	92 ± 7	0
17α-ethinyloestradiol	nd	0	0	nd	0	nd	nd
Sulfamethoxazole	79 ± 5	87 ± 12	0	90 ± 4	0	0	64 ± 5
DBP	55 ± 18	85 ± 4	0	89 ± 4	0	74 ± 6	0
BBP	80 ± 2	78 ± 3	0	78 ± 5	0	94 ± 1	0
ATBC	88 ± 2	89 ± 6	0	78 ± 5	0	86 ± 4	0
OTSA	84 ± 6	127 ± 13	0	88 ± 13	0	99 ± 4	0
TXIB	59 ± 5	0	0	87 ± 9	0	52 ± 29	0
2,4-D	0	0	0	nd	0	0	82 ± 6
Carbaryl	81 ± 2	99 ± 1	0	95 ± 6	0	93 ± 4	0
Chlorpyrifos	23 ± 10	32 ± 2	0	43 ± 14	0	14 ± 10	0
Linuron	93 ± 3	93 ± 5	0	104 ± 1	0	97 ± 2	0
Atrazine	98 ± 9	95 ± 4	0	99 ± 0,07	0	96 ± 2	0
ofloxacin	40 ± 19	64 ± 2	30 ± 7	0	62 ± 21	88 ± 6	0
thiabendazole	95 ± 5	90 ± 7	0	100 ± 4	0	101 ± 2	0
Propylparaben	97 ± 6	109 ± 10		104 ± 10	0	113 ± 6	
Avobenzone	32 ± 26	31 ± 11	0	34 ± 15	0	29 ± 13	0
Ensulizole	87 ± 10	0	91 ± 2	79 ± 5	0	0	0
Oxybenzone	79 ± 10	78 ± 9	0	86 ± 3	0	73 ± 4	0
Benzophenone-4	97 ± 8	39 ± 57	0	94 ± 21	0	0	0
TcPP	93 ± 8	89 ± 3	0	99 ± 6	0	96 ± 6	0
TDCPP	93 ± 5	98 ± 3	0	97 ± 3	0	100 ± 2	0
TbP	73 ± 3	87 ± 13	0	87 ± 4	0	96 ± 13	19 ± 1
TBEP	87 ± 12	85 ± 1	0	106 ± 4	0	99 ± 5	0
sucralose	98 ± 11	84 ± 16	0	94 ± 6	0	104 ± 2	ND

2,4-D et le diatrizoate de sodium avec la cartouche ionique forte, comparativement à un rendement nul avec les autres cartouches.

Dans le cas de la cartouche neutre, il est normal de penser que le manque de fonction polaire sur le polymère (styrène-divinylbenzène) composant la cartouche n'a pas favorisé la rétention de ces deux composés ayant des  $\log D$  de -0,8 et de -0,573 respectivement. Ces deux composés possédant des acides carboxyliques, il est normal de penser qu'une cartouche possédant une amine chargée pourrait favoriser leur extraction par le biais de liaisons ioniques. Cela n'a pas été observé avec la Strata-X-AW. Contrairement, la Strata-X-A, a permis leur extraction. Lors de l'utilisation de cette dernière, les composés ont été analysés dans la fraction d'élution composée de MeOH (0.1% A.F.) prouvant que l'interaction entre le polymère de la cartouche et le composé est principalement ionique (voir tableau 5). En fonction de ces résultats, il est intéressant de penser que la nature de la fonction polaire utilisée sur le polymère, pour une même polarité, pourrait avoir une influence sur les rendements d'extractions pour certains composés.

Pour vérifier cette hypothèse, une comparaison du nombre de composés qui ont élués dans les différentes fractions d'élutions ioniques a été effectuée pour les cartouches ioniques fortes et faibles et est représenté au tableau 6.

Dans le cas des cartouches Strata-X-A et Strata-X-AW, la comparaison est intéressante car l'extraction est effectuée au même pH rendant les deux polymères sous formes cationiques. La valeur du pH définit aussi que le nombre de composés modèles de la matrice, se retrouvant sous forme anioniques dans les échantillons, doit être le même pour les deux types de cartouches. Dans ces conditions, il devient possible d'effectuer une comparaison de la capacité des amines à extraire les composés. En utilisant la Strata-X-AW, seulement le diclofénac, le méthotrèxate de sodium et l'ensulizole ont élué avec la fraction au MeOH (5%  $\text{NH}_4\text{OH}$ ). Tous les autres composés possédant des fonctions acides, mise à part la benzophénone-4 qui n'a pas

été détectée, ont élué avec l'élution neutre.

Comparativement, l'élution avec le MeOH (5% A.F.) de la Strata-X-A a permis l'extraction, de 6 composés possédant des fonctions acides, soit le naproxène, le diclofénac, l'ibuprofène, le diatrizoate de sodium, le méthotrèxate de sodium, le gemfibrozil.

Pour les cartouches Strata-X-C et Strata-X-CW, la comparaison est de nature différente car le pH utilisé pour l'extraction n'est pas le même. La Strata-X-CW possède une fonction acide ayant un pKa de 4,5 et ne permet pas de travailler à des pH inférieurs à cette valeur. Théoriquement les composés extraits dans la fraction ionique avec cette cartouche doivent être les composés possédant des amines ayant les pKa des acides conjugués supérieurs à 6,5. Les résultats obtenus vont dans ce sens, les composés qui ont été extraits sont la fluoxétine, le métoprolol, et l'ofloxacine.

Contrairement à la Strata-X-CW, la Strata-X-C possède un acide sulfonique. La charge sur le polymère est donc indépendante des pH testés lors des extractions. Il devient alors possible de travailler à des pH inférieurs au pH utilisé avec la Strata-X-CW et former plus de cations en solutions. En utilisant un pH de 2,5 lors de l'extraction, 7 composés possédant des amines ont été extraits soit le diméthylaminophénazone, le métoprolol, la fluoxétine, le sulfaméthoxazol, l'atrazine, le thiabendazole et l'ensulizole.

La capacité des cartouches ioniques fortes à faire la rétention des composés par le biais des liaisons ioniques, démontre un résultat intéressant. En obtenant une meilleure répartition des composés dans les différentes fractions d'élutions, on abaisse le nombre de composés dans la fraction MeOH/ACN comparativement à l'utilisation des autres cartouches. En obtenant moins de composés dans cette fraction, la probabilité d'obtenir une co-élution lors de l'analyse, entre les contaminants ou ces derniers et la matrice, est diminuée. Ainsi le nombre de faux négatifs dû à la suppression d'ionisation devrait aussi être diminué.

**Tableau 6.** Contaminants modèles qui ont élué dans les différentes fractions d'élution possédant un additif acide ou basique pour les cartouches ioniques.

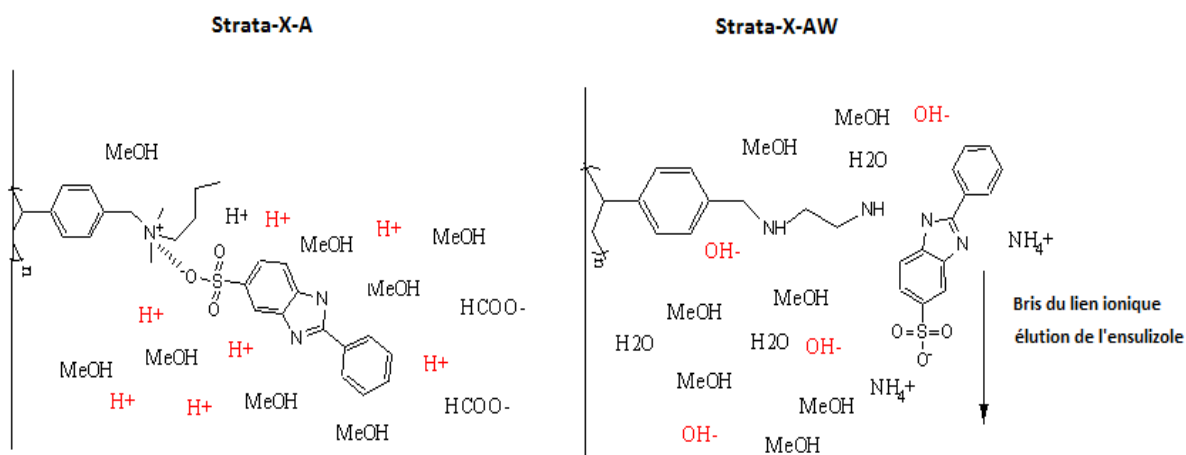
Ioniques faibles		Ioniques fortes	
MeOH (5% NH <sub>4</sub> OH)	MeOH (5% A.F.)	MeOH (5%A.F.)	MeOH (5% A.F.)
Diclofénac	Fluoxétine	Naproxène	Diméthylaminophénazone
Méthotrexate	Métoprolol	Diclofénac	Métoprolol
Ensulizole	Ofloxacin	Ibuprofène	Fluoxétine
		Diatrizoate	Sulfaméthoxazole
		Méthotrexate	Atrazine
		Gemfibrozil	Thiabendazole
		2,4-D	Ensulizole

Malheureusement, même si cette hypothèse semble valide, elle n'a pas encore été démontrée lors des essais effectués avec les différentes cartouches et les composés modèle. L'ionisation de la 17 $\alpha$ -éthynilestradiol a été affectée par la suppression de la matrice et ces composés n'ont pas été détectés dans les échantillons fortifiés après l'extraction, peu importe la cartouche utilisée. Pour confirmer cette hypothèse, il serait intéressant d'effectuer des analyses d'échantillons réelles provenant de différentes rivières et de comparer les résultats obtenus en fonction des différentes cartouches. En accumulant des résultats à travers le temps, il serait possible de comparer si réellement les résultats diffèrent entre les deux types de cartouches.

Il est important de mentionner que même si ces cartouches ont permis d'extraire certains composés polaires comme le 2,4-D et diatrizoate de sodium, elles ne pourraient être utilisées seules lors d'une analyse. L'utilisation de l'amine quaternaire et de l'acide sulfonique comme fonction polaire pourrait ne pas permettre l'élution de certains composés. Ceci a été démontré lors de l'extraction avec la Strata-X-A. L'ensulizole possédant un acide sulfonique n'a pas été détecté dans la fraction MeOH (5% A.F.) et dans la fraction MeOH/ACN. Ceci peut être expliqué en considérant la valeur du pKa de l'acide sulfonique de l'ensulizole qui est de -2,18. En utilisant l'acide formique pour briser l'interaction ionique avec l'amine quaternaire du polymère de la cartouche, le pH de la solution à 5% n'est pas assez bas pour amener l'acide sulfonique sous forme neutre. Ainsi, les composés possédant des fonctions acides ou basiques fortes ne pourraient être détectés avec l'utilisation des cartouches ioniques fortes. En



revanche, l'utilisation des cartouches ioniques faibles rend possible cette détection. La basicité et l'acidité des solutions de MeOH (5% NH<sub>4</sub>OH) et de MeOH (5% A.F.) et la valeur des pK<sub>a</sub> des fonctions polaires sur les polymères, permettent l'élution des composés. Le bris du lien ionique est dû au gain ou à la perte d'un proton sur l'acide carboxylique ou sur l'amine secondaire de chacun des polymères. Ce mécanisme est représenté à la figure 17.



**Figure 17.** Comportement d'un composé éluant possédant une fonctions acides fortes face à des polymères possédant différentes fonctions polaires.

À la lumière des résultats obtenus pour l'extraction des composés modèle avec les différentes cartouches, il est difficile d'évaluer si un des types de cartouches est plus favorable qu'un autre pour l'analyse semi-ciblée et pour le développement de la méthode. Dans le but de répondre à la problématique posée sur les types de cartouches utilisés en analyse semi-ciblée, une étape de comparaison sera effectuée, sur des échantillons réels non dopés et discutée dans la section " analyse de la rivière St-François".

## 4.5 Analyse de la méthode de détection avec l'algorithme

### 4.5.1 Association des spectres isotopiques

Comme mentionné au chapitre 2, la pertinence de l'association des spectres, repose sur deux paramètres jugeant de celle-ci, soit le degré de correspondance, et le degré de correspondance inverse.

La première étape effectuée pour réussir à définir l'efficacité de la méthode, a été d'établir le pointage admis pour le degré de correspondance dans le cas d'une association pertinente. Pour ce faire, les analyses des contaminants modèle des échantillons dopés et extrait de la rivière Magog, pour l'évaluation des rendements d'extraction, ont été utilisées. L'algorithme *Molecular feature* a été utilisé pour générer leurs spectres expérimentaux. Pour terminer, la librairie des spectres théoriques pour les ions M+H a été utilisée pour effectuer leur identification et établir le pointage pour leur association. Chaque extraction effectuée avec chaque cartouche ont été investiguées. Les résultats présentés dans les prochains paragraphes sont pour les composés ayant été extraits et qui ont ionisés. Le sucralose n'a pas été détecté avec l'algorithme peu importe la cartouche utilisé malgré son extraction. Tous les pointages pour chaque contaminants modèles en fonction de chaque cartouche et de chaque échantillons ont été répertoriés dans la section Annexe.

Avec la cartouche Strata-X, 34 contaminants ont été détectés par l'algorithme avec des pointages supérieurs à 940, pour le degré de correspondance et le degré de correspondance inverse, dans chaque échantillon. Un seul contaminant a obtenu des pointages inférieurs 940, soit l'ofloxacin.

Avec la cartouche, Strata-X-AW, 34 contaminants ont été détectés avec des pointages supérieurs à 950 pour le degré de correspondance et le degré de correspondance inverse.

Parmi ces composés, 3 composés ont été détectés dans deux échantillons sur trois, soit, la benzophénone-4, l'ATBC, et le méthotrèxate.

Avec la Strata-X-CW, 32 composés sur 38 ont été détectés avec un pointage supérieur à 940. Parmi ces composés, la benzophénone-4 et l'ofloxacine ont été détectés dans deux échantillons sur trois. Le chlorpyrifos a été détecté dans un échantillon sur trois.

Avec la cartouche Strata-X-A, 34 contaminants ont été détectés avec un pointage supérieur à 940. Parmi ces composés l'avobenzène, l'ATBC, le diatrizoate de sodium la cyclophosphamide ont été détectés dans 2 échantillons sur 3. Le 2,4-D a été détecté dans 1 échantillon sur 3. Pour la cartouche Strata-X-C, les 8 contaminants extraits ont été détectés avec des pointages supérieurs à 940 et dans trois échantillons sur trois.

Les contaminants qui ont obtenu des pointages qui sont situés entre 940 et 1000 ont été considérés comme des composés ayant eu une forte corrélation entre les patrons isotopiques expérimentaux et théoriques. De faible variation entre les intensités des spectres expérimentaux et les intensités des spectres théoriques obtenus par l'algorithme ont conduit à abaisser le pointage par rapport à sa valeur maximum. Différents contaminants ont été détectés à des pointages inférieurs à 940. Par exemple, l'ofloxacine a été détecté avec un pointage de 863 pour les deux paramètres de corrélation avec la Strata-X dans un échantillon. Lors de l'investigation de son patron isotopique expérimental, les ions du patron ayant été détectés ont obtenu une abondance relative de 100% et de 42% respectivement. En comparaison, les ions faisant partie du spectre isotopique théorique possède des abondances relatives de 100 % et de 21 %, ce qui explique l'abaissement du pointage.

Les variations dans les spectres isotopiques peuvent être principalement expliquées par un facteur. Premièrement, l'ion expérimental possédant une abondance relative de 100% et un  $m/z$  de 362,1537 a été détecté à une intensité absolue de 2379. Ainsi le spectre théorique dicte que l'ion ayant une abondance relative de 21%, soit l'ion du spectre théorique, devrait être

détecté approximativement à une intensité absolue de 499,59, soit une intensité très faible pour être détecté par le détecteur. Ainsi, il est probable que l'ion expérimental détecté, ayant un  $m/z$  de 363,1602 et une abondance relative de 41,9 % soit un composé qui provient de la matrice, ayant coélué avec le contaminant modèle et introduit par erreur dans le spectre isotopique expérimental par l'algorithme.

Ce résultat démontre que pour les contaminants détectés à faible concentration, la matrice peut avoir un impact majeur sur la corrélation des patrons isotopiques. On peut remarquer que l'ofloxacin est un contaminant ayant eu un rendement d'extraction moyen de  $40 \pm 19$  % avec la cartouche Strata-X, et un des rendements d'ionisation les plus faibles avec le MeOH (voir tableau 5). Ces deux facteurs combinés ensemble peuvent expliquer la faible détection des ions du spectre expérimental de l'ofloxacin. Il est à noter que dans le cas de l'ofloxacin, le temps de rétention était connu, ce qui a rendu possible son identification malgré la faible corrélation. Dans le cas d'un échantillon inconnu, il aurait été difficile d'admettre que les patrons expérimentaux et théoriques correspondaient. Ainsi avant d'attribuer des pointages minimums au paramètre de corrélation des patrons isotopiques, une étude plus approfondie de l'effet que peut avoir la concentration d'un composé dans la matrice sur les pointages obtenus devra être effectuée dans le futur. Par contre cette étude ne sera pas présentée dans ce mémoire.

Il a été mentionné dans les paragraphes antérieurs que certains composés avaient eu des fréquences de détection inférieure par rapport à d'autres composés. Parmi les masses générées par l'algorithme, les masses des contaminants modèle ayant eu des fréquences de détection de deux échantillons sur trois n'ont pas été générés. Ces résultats restent négligeables devant le taux de détection de l'algorithme. Si on admet que chaque contaminant dopé dans tous les échantillons qui ont été extraits par les cartouches et qui ont ionisé, devrait être détecté par l'algorithme, on peut comptabiliser 429 possibilités de détection pour toutes les cartouches testées en triplicat. Sur les 429 possibilités de détections des contaminants, 422 possibilités ont mené à une détection. Cela représente un rendement de détection

d'environ 98 %. Si l'on considère que seulement le sucralose n'a pas été détecté dans toutes les cartouches, l'algorithme admet un taux de faux négatifs d'environ 3 %. Comparativement, Gago-Ferrero *et al.*, ont utilisé l'algorithme *CHROMATOGRAM*, du logiciel TargetAnalysis, de Brucker Daltonics pour effectuer une analyse semi-ciblée des contaminants émergents dans les eaux d'épuration. Même si les bases de l'algorithme sont différentes, la comparaison du taux de faux négatifs reste comparable et satisfaisant. Ils ont obtenu un taux de faux négatifs inférieur à 5 % avec 173 composés modèle <sup>(29)</sup>.

La raison justifiant la non détection du sucralose par l'algorithme n'a pas encore été comprise. Une hypothèse plausible serait que ce contaminant ait ionisé très faiblement avec d'autres composés de la matrice. En fonction de cela, l'algorithme n'a pas considéré ce composé ayant un signal au bruit supérieur à 3 et n'a pas pris en compte sa présence. Si cette hypothèse est valide, en augmentant la concentration du sucralose dans la matrice, son signal au bruit devrait augmenter et sa détection devrait être effectuée. Cette hypothèse n'a pas encore été investiguée mais le sera lors de l'étude de la détection des contaminants par l'algorithme en fonction de leur concentration dans la matrice.

Dans le but de pouvoir comparer les cartouches avec des échantillons réels, soit l'eau de la rivière St-François, des pointages préliminaires ont été admis pour la méthode. Plus de 95% des contaminants modèle ont obtenu un pointage supérieur à 940 lorsqu'il y a eu corrélation avec la librairie des patrons isotopiques. Pour tenir compte des effets possibles de la matrice sur les contaminants à faible concentration, le pointage sera abaissé à 900 pour le degré de correspondance inverse et le degré de correspondance.

#### 4.5.2 Les faux positifs

Lors de l'analyse du degré de correspondance inverse, un phénomène, pouvant compliquer l'analyse des données, a été observé. Plusieurs composés possédant les mêmes rapports de la masse sur la charge, mais n'éluant pas au même moment ont été détectés. Par exemple, la

figure 18, démontre la liste des masses détectés par l'algorithme *MOLECULAR FEATURE*. On peut observer que deux composés ont été détectés ayant des masses de 152,0713, mais ayant des temps de rétention différents. Cette masses sont directement associées à l'ion  $[M+H]^+$  de l'acétaminophène soit,  $m/z$   $152,0713 \pm 0,005$ . Le temps de rétention de l'acétaminophène étant connu, il est facile d'évaluer si les composés détectés correspondent aux composés modèle. Par contre, lors de l'analyse d'échantillon réel, les temps de rétention des composés faisant partie de la base de données ne sont pas nécessairement connus, compliquant l'analyse des résultats. La présence de ce phénomène mène a un concept qui n'a pas encore été discuté dans ce mémoire, soit les faux positifs.

La présence de faux positifs lors de l'analyse semi-ciblée est un phénomène connu au niveau de la littérature. Par exemple, Krauss *et Al.*, relate que pour l'analyse de pesticides dans des échantillons de sols, les principales masses présentes dans l'analyse sont dûes a l'extraction d'acides gras, de polyphénols, de glucides, d'acides humiques, de peptides et sont principalement composés de  $C,H,N,O^{(5)}$ . Dans la source d'ionisation du spectromètre, ces composés sont soit ionisés ou fragmentés avant d'être ionisés. Ceci mène à la détection d'une gamme de masses se situant entre 150 et 450 mDa. Ces masses sont souvent faussement associées à des masses faisant partie de la base de données menant a un taux de faux positifs non négligeable. Dans le cas de l'eau de surface, Schwarzbauer *et al.* énumère les mêmes composés comme étant des composés organiques d'origines naturels<sup>(1)</sup>. Lorsque l'échantillon est concentré, ces composés se retrouvent en assez grande concentration pour être détectés par le spectromètre ce qui explique la présence des faux positifs perçue dans l'analyse.

Dans certain cas ces faux postifs peuvent être discriminés par l'utilisation des degrés de correspondance et de correspondance inverse. Par exemple, dans le cas de l'acétaminophène, une des composés possède les paramètres d'association de 992 et 722 pour le degré de correspondance et pour le degré de correspondance inverse. Ces pointages, en dessous des valeurs limites déterminées pour la méthode, démontrent que les spectres isotopiques ne correspondent pas. On peut alors convenir que ce composé n'est pas l'acétaminophène. Par

contre, la figure 18 montre un autre exemple où la corrélation des patrons isotopiques ne s'applique pas. Dans le cas du gemfibrozil, la situation est différente. Les pointages obtenus sont situés dans l'intervalle de pointage acceptable pour une association pertinente et les composés une masse située dans l'intervalle de masse accepté pour une association. Ce résultat démontre la limite de l'utilisation des pointages pour discriminer les masses analysées par le spectromètre et pour résoudre la problématique associée aux composés organiques étant dans l'intervalle de masse d'un contaminant.

#	RT [min]	Area	Int. Type	I	S/N	Chromatogram	Max. m/z	FWHM [min]	Fit'	Purity'	RFit'	Compound Name
422	2.5	115207.00	MolFeature	20959	138.5		152.0713		1000	1000	1000	Acetaminophen
555	4.7	37668.20	MolFeature	818	5.4		152.0713		992	715	722	Acetaminophen
529	4.3	29754.02	MolFeature	1840	16.5		170.0218		995	995	995	Glyphosate
2258	13.3	49772.19	MolFeature	2211	6.4		181.0850		1000	1000	1000	Propylparaben
463	3.4	53678.64	MolFeature	3563	9.0		181.0853		1000	1000	1000	Propylparaben
439	3.0	50709.15	MolFeature	2226	5.6		181.0854		1000	1000	1000	Propylparaben
3070	18.6	213396.39	MolFeature	13330	38.9		181.0864		1000	987	987	Propylparaben
559	4.7	1399483.38	MolFeature	1422...	137...		202.0441		1000	1000	1000	Thiabendazole
1188	9.6	313168.25	MolFeature	45120	331.0		202.0868		1000	1000	1000	Carbaryl
2553	14.5	44918.30	MolFeature	2372	8.8		207.1382		974	869	869	Ibuprofene
1382	10.5	3928099.75	MolFeature	1478...	178...		216.1018		1000	1000	1000	Atrazine
2361	13.6	277473.88	MolFeature	37844	115.7		229.0866		1000	1000	1000	Oxybenzone
1857	12.1	128271.49	MolFeature	22263	43.1		231.1022		1000	1000	1000	Naproxen
448	3.0	1325879.75	MolFeature	1306...	647.6		232.1457		1000	1000	1000	Dimethylaminoph...
1281	10.1	1791332.50	MolFeature	1525...	11.3		237.1031		1000	1000	1000	Carbamazepine
1777	11.9	544163.56	MolFeature	49569	502.2		249.0199		1000	1000	1000	Linuron
2253	13.3	68711.15	MolFeature	5140	22.6		251.1629		950	950	951	Gemfibrozil
2809	16.5	87288.05	MolFeature	9563	42.0		251.1651		999	999	1000	Gemfibrozil
598	5.3	268999.97	MolFeature	44822	281.7		254.0608		1000	1000	1000	Sulfamethoxazole

**Figure 18.** Liste de masses détectées par l'algorithme MOLECULAR FEATURE pour l'extraction des composés modèles avec la cartouche Strata-X.

Si la discrimination par les patrons isotopiques ne peut s'appliquer à tous les composés détectés par le spectromètre, une des solutions pour abaisser le taux de faux positifs est de réduire l'exactitude sur les masses détectées. Il est connu que les spectromètres de masses se décalibrent avec le temps, menant à des rapports masses sur la charge erronés versus le rapport théorique. C'est pourquoi une marge d'erreur de 5mDa est associée au spectre théorique lors de la comparaison des masses théoriques et expérimentales par l'algorithme. Pour s'assurer d'avoir une calibration optimale, l'étalonnage des masses internes pourrait être effectué. Ceci est décrit par l'injection d'un composé standard en continu parallèlement à l'injection qui provient de l'appareil chromatographique. Ainsi, la calibration de l'appareil peut être

effectuée avec le composé standard tout au long de l'analyse, améliorant l'exactitude sur les masses détectées.

A cette solution, pourrait être ajoutée une autre stratégie qui n'abaisse pas le taux de faux positifs mais facilite l'analyse des données. Gago-Ferrero *et Al.* ont utilisé, lors de l'analyse semi ciblée, un programme informatique développé par leur laboratoire, permettant de prédire les temps de rétention pour les composés faisant partie de la base de données<sup>(29)</sup>. Ainsi, en obtenant un temps de rétention approximatif pour chaque composé, il est facile de discriminer les faux positifs ayant des temps de rétention expérimentaux éloignés de ceux calculés. Il est à noter que ce type de programme est commercialement disponible et que leur développement reste une alternative.

#### 4.6 Analyse de l'eau de la rivière St-François.

##### 4.6.1 Comparaison des cartouches

Pour effectuer la comparaison des contaminants détectés en utilisant les différentes cartouches dans une analyse réelle, seulement deux types de cartouches sur trois ont été retenues. Dans le but de comparer la différence dans l'utilisation d'un polymère neutre et ionique, la cartouche Strata-X a été retenue. Pour les cartouches ioniques, les résultats présentés dans la section allouée à l'extraction des composés modèles restent partagés pour décider du meilleur type de cartouche ionique. Il a été démontré que les cartouches ioniques faibles pouvaient négliger l'extraction de certains contaminants polaires comme le 2,4-D et le diatrizoate de sodium contrairement aux cartouches ioniques fortes. Par contre, ces dernières négligeraient les composés possédant des acides et des bases fortes contrairement aux ioniques faibles. Puisque les cartouches ioniques fortes ont une meilleure affinité avec les composés hautement hydrophiles, il serait intéressant de pouvoir effectuer leur comparaison en utilisant la chromatographie de type HILIC qui favoriserait la rétention des composés plus polaires. Dans le cadre des travaux effectués menant à la rédaction de ce mémoire, seulement une



méthode chromatographique sur phase inverse a été développée. En fonction de ces arguments, les cartouches ioniques faibles ont été choisies pour être comparées à la Strata-X et les cartouches ioniques fortes seront testées et comparées ultérieurement.

#### 4.6.1.2 Contaminants détectés

Suite à l'extraction sur phase solide et à l'analyse de l'eau de la rivière St-François par spectrométrie de masse haute résolution, plusieurs masses présentes dans les échantillons ont été détectées. Dans le but de structurer l'analyse des résultats et d'optimiser la qualité de ces derniers, les niveaux d'identification élaborés par Schymanski E. L. et *al.* et expliqués à la section 2.2.6 de ce mémoire ont été utilisés.

Une première analyse des échantillons de l'eau de la rivière St-François, a été effectuée avec la méthode d'analyse semi-ciblée développée tout au long de ce mémoire. Les analyses ont été faites en triplicata pour chaque cartouche. Les résultats obtenus lors des premières analyses ont démontré que les contaminants détectés avec la base de données ont été détectés avec une faible intensité. Dans le but de pouvoir identifier les contaminants avec un niveau d'identification élevé, il est nécessaire que les composés à fragmenter soient détectés à une intensité assez élevée pour pouvoir détecter ses fragments. Pour cette raison, les triplicatas ont été recombinaés en un seul échantillon, évaporés sous azote, et dissous dans 300 µL du solvant d'injection. Cette étape a permis d'obtenir une intensité suffisante pour effectuer la fragmentation des composés d'intérêt. Les étapes d'identification présentées plus bas sont les étapes effectuées sur les échantillons recombinaés.

La première étape de l'analyse des données fut d'utiliser l'algorithme *MOLECULAR FEATURE* pour obtenir la masse des ions détectés par le spectromètre. Ainsi au niveau d'identification 5, on retrouve avec la strata-X, la Strata-X-CW et la Strata-X-AW, 5758, 7986 et 8523 masses exactes respectivement (voir tableau 11). À ce stade, il est peu probable que l'on puisse distinguer facilement les masses correspondant à la matrice, des masses correspondants aux contaminants. Pour faciliter l'analyse et restreindre le nombre de données

obtenues, la base de données contenant les masses exactes et les patrons isotopiques des 264 contaminants de nouvelle génération a été utilisée menant les contaminants identifiés au niveau 4 (voir tableau 7, 8 et 9). La librairie des patrons isotopiques des ions M+H et M-H a été utilisée. En utilisant la librairie des patrons isotopiques des ions en mode négatif, peu d'associations ont été effectuées. Pour optimiser le temps d'analyse des données, les composés en mode négatif n'ont pas été investigués.

Lors de l'utilisation de la base de données, les paramètres définis pour la corrélation des patrons isotopiques et pour l'exactitude entre les masses exactes théoriques et expérimentales, présentés aux chapitres 3 et 4, ont été utilisés. Par la suite, les contaminants obtenus avec la base de données, ont été filtrés selon certains critères.

Le premier critère utilisé a été la soustraction des composés présent dans le blanc de terrain, qui a été extrait selon la même procédure que les échantillons. Cette soustraction permet d'enlever les composés représentant la contamination des échantillons due à l'échantillonnage, à l'extraction et à l'analyse. Par la suite, un deuxième critère a été utilisé. Seulement les composés ayant été détecté avec une intensité supérieure à 1000 ont été sélectionnés. Cette intensité a été admise comme l'intensité minimum pour pouvoir détecter les fragments expérimentaux lors de la fragmentation. L'application de la base de données et de la filtration des données ont mené à l'identification de 39, 38 et 53 contaminants, à un niveau d'identification 4, pour la Stata-X, la Strata-X-AW et la Strata-X-CW respectivement.

La méthode d'analyse des données établie par Schymanski E. L. *et al.* suggère que pour qu'un contaminant soit classé au niveau 3, une première investigation de la structure du contaminant à partir de la formule brute obtenue par corrélation des patrons isotopiques, au niveau 4, doit être effectuée.

**Tableau 7.** Contaminants détectés au niveau 4 dans les eaux de la rivière St-François avec la cartouche Strata-X ou D.C est le degré de correspondance et D.C.I est le degré de correspondance inverse.

Temps de rétention (min)	Intensité (amu)	m/z	Contaminants	D.C	D.C.I
2,5	5624	152,071	Acétaminophène	992	1000
3,4	1553	172,133	Gabapentin	995	996
3,5	4789	195,1	Butylparabène	975	975
3,5	2187	181,085	Propylparabène	988	1000
3,9	11457	174,055	Déiisopropylatrazine	904	998
4,7	2078	153,054	Méthylparabène	992	1000
4,7	3690	174,055	Déiisopropylatrazine	901	1000
4,8	18077	195,09	Cafféine	999	999
5	2100	393,209	Dexaméthasone	998	1000
5,5	3157	264,196	Tramadol	1000	1000
			o-Desméthylvenlafaxine	1000	1000
6	1763	167,07	Éthylparaben	998	998
6,7	3853	278,211	Venlafaxine	1000	1000
			Acide octyldiméthyl-p-aminobenzoic	1000	1000
6,8	2647	181,085	Propylparabène	988	1000
7	43604	134,071	2-Aminobenzimidazole	1000	1000
7,1	3284	407,224	Lincomycin	994	1000
7,8	5335	183,077	Triéthyl phosphate	1000	1000
8	3785	278,211	Venlafaxine	1000	1000
			Acide octyldiméthyl-p-aminobenzoïque	1000	1000
9	3089	249,148	Isoamyl méthoxycinnamate	999	999
9,8	1479	231,101	Naproxène	998	998
9,9	1530	307,116	Fluconazole	999	999
10,6	1921	251,163	Gemifibrozil	973	925
10,9	1039	231,1	Naproxène	977	963
11,1	37327	192,138	N,N-Diéthyl-m-toluamide	1000	1000
11,3	5888	219,137	Méprobamate	997	997
11,9	2758	399,247	Tributoxyéthyl phosphate	992	993
12,4	1971	279,094	Oxide de Triphénylphosphine	998	999
12,5	1772	183,079	Triéthyl phosphate	993	993
12,5	4562	251,163	Gemifibrozil	997	935
12,7	1937	837,53	Roxithromycin	965	966
15,5	1734	291,194	Éthylhexyl méthoxycinnamate	999	1000
15,9	10483	271,167	Trenbolone	999	1000
17	6061	267,171	Tri-N-butyl phosphate	1000	1000
			Tri-isobutyl phosphate	1000	1000
			Aténolol	999	999

17,6	3335	221,19	Butylated hydroxy toluène	999	1000
19,2	4635	181,085	Propylparabène	1000	1000
19,9	1516	291,194	Éthylhexyl méthoxycinnamate	999	1000
20,3	3927	419,277	Simvastatin	998	1000
20,5	3947	267,171	Tri-N-butyl phosphate	997	909
			Tri-isobutyl phosphate	997	909
			Aténolol	994	906
20,7	9644	311,115	Mabutérol	928	930
20,9	2345	349,18	Énalaprilate	999	999

**Tableau 8.** Contaminants détectés au niveau 4 dans les eaux de la rivière St-François avec la cartouche Strata-X-CW ou D.C est le degré de correspondance et D.C.I est le degré de correspondance inverse.

Temps de rétention (min)	Intensité (amu)	m/z	Contaminants	D.C	D.C.I
2,5	2825	152,0705	Acétaminophène	992	1000
2,8	2722	181,0851	Propylparabène	918	918
3,4	3812	172,1331	Gabapentin	999	999
3,4	1086	167,0695	Éthylparabène	906	906
3,9	3788	174,0548	Déisopropylatrazine	903	997
4,7	3272	174,0542	Déisopropylatrazine	901	1000
4,8	1174	167,0694	Éthylparabène	963	963
5	1726	393,2073	Dexaméthasone	998	1000
5,3	10884	183,0773	Triéthyl phosphate	981	981
6	1960	167,0697	Éthylparabène	999	999
6,6	4236	195,1006	Butylparabène	999	999
7	43857	134,071	2-Aminobenzimidazole	1000	1000
7,9	4102	183,0765	Triéthyl phosphate	998	998
11,1	29403	192,1379	N,N-Diéthyl-m-toluamide	1000	1000
11,9	3148	399,2465	Tributoxyéthyl phosphate	960	947
12,4	3910	251,1633	Gemifibrozil	1000	1000
12,5	6101	219,1372	Méprobamate	997	998
12,9	4374	249,1472	Isoamyl méthoxycinnamate	1000	1000
13	2307	327,0073	Tri(chloropropyl)phosphate	999	999
13,4	14544	167,0699	Éthylparaben	1000	1000
13,8	9309	291,1936	Éthylhexyl méthoxycinnamate	970	970
14,4	1459	221,1892	Butylated hydroxy toluène	999	999

14,5	1839	276,1955	N-Octylbicycloheptene dicarboximide	964	937
15,5	3063	291,1939	Éthylhexyl méthoxycinnamate	999	1000
15,6	1033	287,1979	Déhydrotestostérone	999	1000
16,5	1363	221,1894	Hydroxy toluène butylé	973	997
17,6	3785	221,1898	Hydroxy toluène butylé	1000	1000
19,2	11020	181,0856	Propylparabène	1000	1000
20,9	2631	349,1805	Énalaprilate	998	998
1,5	1561	139,0369	Acide salicylique	1000	908
3,4	31563	172,1333	Gabapentin	1000	1000
5,5	2776	264,1957	Tramadol	999	1000
5,9	2521	393,2099	Déxaméthasone	996	996
6,2	1624	268,1908	Métoprolol	1000	1000
6,3	11653	210,1102	Propoxur	999	1000
6,3	1190	408,1265	Cefprozil	950	955
6,6	3136	278,2116	Venlafaxine	999	1000
			Acide octyldiméthyl-p-aminobenzoïque	999	1000
7,7	1864	195,0995	Butylparabène	985	1000
7,9	3150	278,2112	Venlafaxine	999	999
			Acide octyldiméthyl-p-aminobenzoïque	999	999
			o-Desméthylvenlafaxine	968	986
9,5	6165	195,0995	Butylparabène	1000	976
10,5	1703	230,1754	1-Pipéridinecarboxylic acide 2-(2-hydroxyéthyl)-1-méthylpropylester	1000	1000
11,1	7413	192,1385	N,N-Diéthyl-m-toluamide	1000	1000
12,4	1430	748,4845	Clarithromycin	995	996
13,3	1377	249,1461	Isoamyl méthoxycinnamate	999	1000
13,4	43104	195,1016	Butylparabène	1000	1000
13,4	33133	167,0705	Éthylparabène	1000	1000
13,5	1530	251,1618	Gemifibrozil	1000	1000
13,8	6459	291,1933	Éthylhexyl méthoxycinnamate	998	999
15,6	1033	287,1976	Déhydrotestosterone	999	1000
15,6	1179	219,1379	Méprobamate	989	989
17,5	1294	307,1438	Alpha-hydroxytriméthoprim	1000	1000
18,9	2173	399,2509	Tributoxyéthyl phosphate	1000	1000
20,2	1302	287,2005	Déhydrotestosterone	998	999

**Tableau 9.** Contaminants détectés au niveau 4 dans les eaux de la rivière St-François avec la cartouche Strata-X-AW ou D.C est le degré de correspondance et D.C.I est le degré de correspondance inverse.

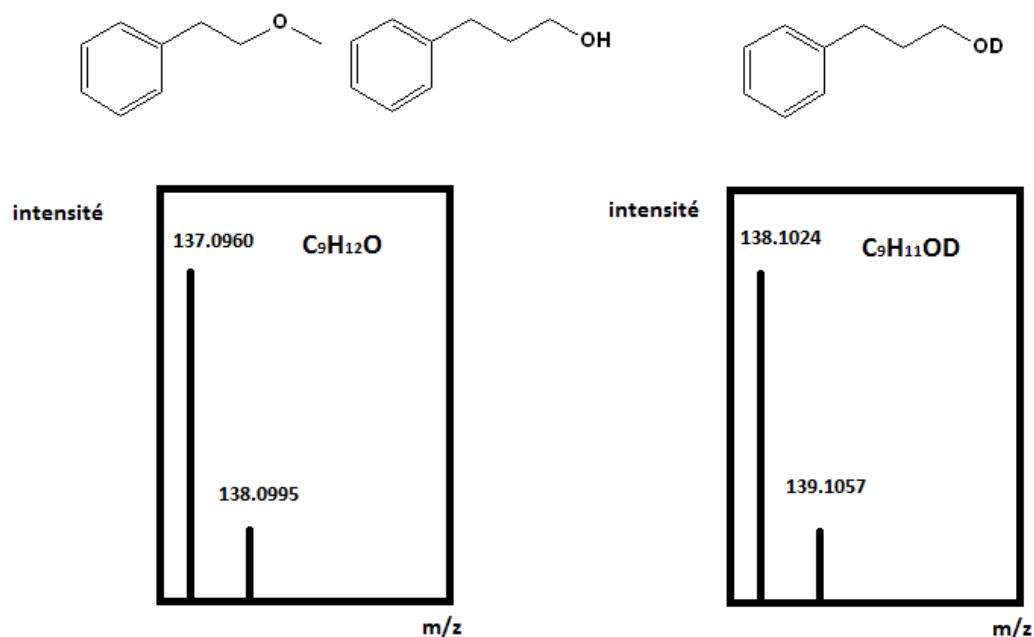
Temps de rétention (min)	Intensité (amu)	m/z	Contaminants	D.C	D.C.I
2,5	4539	152,0706	Acétaminophène	992	1000
2,6	2148	154,0501	Acide aminosalicylique	993	1000
3,4	1046	172,133	Gabapentin	992	992
3,9	3911	181,0848	Propylparabène	967	967
4	3911	181,0848	Propylparabène	988	1000
4,7	2277	174,0536	Déisopropylatrazine	901	1000
4,7	1455	167,069	Éthylparabène	957	957
4,8	17822	195,0897	Cafféine	1000	1000
5,5	1289	231,1446	Propyphénazone	974	934
5,8	4020	181,0849	Propylparabène	988	1000
6,2	1764	268,1902	Métoprolol	968	968
6,6	4076	278,2108	Venlafaxine	999	999
			Acide octyldiméthyl-p-aminobenzoïque	999	999
6,7	2369	181,0844	Propylparabène	988	1000
6,9	47349	134,0713	2-Aminobenzimidazole	1000	1000
7,9	3485	278,2109	Venlafaxine	1000	1000
			Acide octyldiméthyl-p-aminobenzoïque	999	1000
8,8	2412	195,0996	Butylparabène	985	1000
9,2	5701	249,1473	Isoamyl méthoxycinnamate	999	999
9,4	1224	284,9604	Tri(2-chloroéthyl)phosphate	995	996
9,5	1775	231,0999	Naproxène	998	999
9,5	3792	188,1073	Molinate	985	1000
10,7	3773	219,1371	Méprobamate	988	998
11,1	1627	233,0241	Diuron	997	997
11,9	2611	399,2473	Tributoxyéthyl phosphate	934	935
12,4	2225	271,1661	Trenbolone	998	998
13	2405	249,1467	Isoamyl méthoxycinnamate	999	1000
13	1091	221,1891	hydroxy toluène Butylé	996	996
15,9	7457	271,1661	Trenbolone	999	1000
3,7	7571	253,1275	Cimétidine	978	953
4,7	3519	174,0552	Déisopropylatrazine	901	1000
6,3	1662	195,1015	Butylparabène	985	1000

8,9	2660	219,1379	Méprobamate	992	992
10,5	2001	230,1753	1-Pipéridinecarboxylique acide 2-(2-hydroxyéthyl)-1-méthylpropylester	997	997
11,1	7685	192,1386	N,N-Diéthyl-m-toluamide	1000	1000
11,3	3775	219,138	Méprobamate	998	998
12,3	9833	249,1485	Isoamyl méthoxycinnamate	1000	949
12,9	2141	249,1479	Isoamyl méthoxycinnamate	1000	1000
13,1	3371	219,1379	Méprobamate	998	998
13,4	1518	249,1476	Isoamyl méthoxycinnamate	1000	1000

En fonction du temps alloué à l'analyse menant à la rédaction de ce mémoire, cette investigation n'a pas été effectuée. Une des méthodes efficace et proposée dans ce mémoire pour effectuer l'investigation de structures à partir d'une formule brute en spectrométrie de masse est l'échange hydrogène-deutérium. Cette méthode permet de déterminer si la molécule possède des fonctions chimiques avec des hydrogènes échangeables comme les alcools, les amines, les thiols, etc. Le principe repose sur l'addition d'eau deutéré avant ou après la chromatographie à l'échantillon à analyser. Les molécules possédant des protons labiles échangent ces derniers avec le deutérium augmentant ainsi la masse de l'échantillon de n unité dépendamment du nombre de protons échangeables. Du même coup, le spectre de masse obtenu, par exemple pour un composé possédant une fonction alcool, diffère d'un spectre correspondant à un composé possédant la même formule brute mais possédant une fonction éther.

Les composés ayant été identifiés au niveau 4 ont été fragmentés avec la cellule de collision du spectromètre de masse. Les fragments détectés ont été comparés aux fragments obtenus en ionisation par électro-nébulisation répertoriés dans la librairie MzCloud. Seul les composés ayant des fragments en corrélation avec les spectres de la librairie ont été élevés au niveau 2. Les masses expérimentales et théoriques comparées pour chaque contaminant sont présentées au tableau 10. Dans le cas de la Strata-X, 5 contaminants ont été détectés au niveau 2, soit trois composés pharmaceutiques, un composé d'usage alimentaire et domestique et un produit utilisé contre les insectes. Ces produits sont l'acétaminophène, le gabapentin, la venlafaxine, la caféine et le N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide respectivement. Dans le cas des cartouches ioniques faibles, les mêmes produits ont été confirmés au niveau 2 que la cartouche neutre.

Par contre, un composé pharmaceutique, le métoprolol, a été détecté grâce à l'échangeuse d'ions Strata-X-CW.



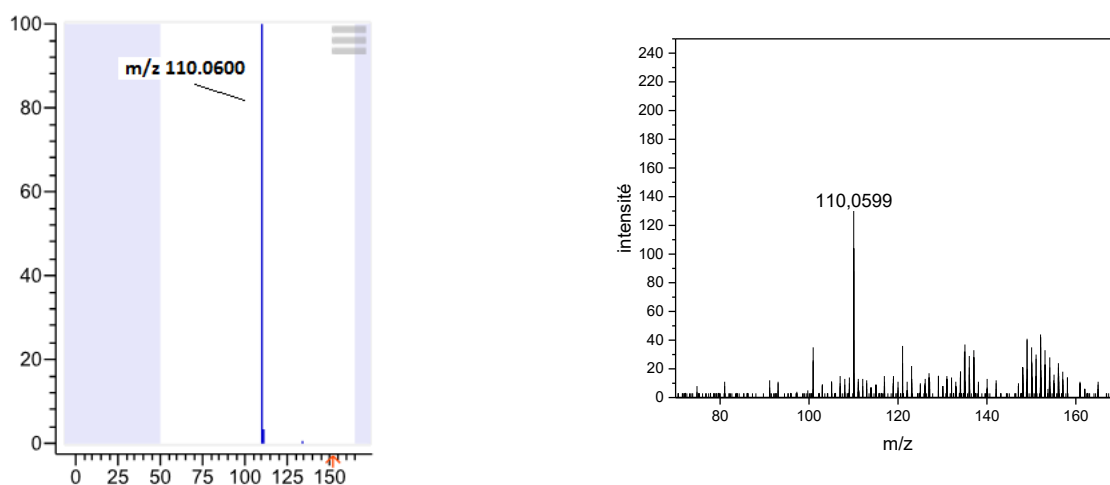
**Figure 19.** Spectres de masse de contaminants fictifs avant l'échange hydrogène deutérium et après l'échange hydrogène deutérium.

Pour finaliser l'analyse, les contaminants du niveau 2 pour lesquels les étalons étaient détenus dans le laboratoire ont été injectés dans le gradient utilisé pour l'analyse. Le temps de rétention obtenu avec l'algorithme a été comparé au temps de rétention de l'étalon. Dans les composés énumérés au niveau 2, seulement les étalons de la caféine, du métoprolol et de l'acétaminophène étaient présents dans le laboratoire. Ainsi, l'injection de ces composés ont permis de confirmer la présence de ces contaminants dans les échantillons d'eau de la rivière St-François et de les élever à un niveau de détection 1.



**Tableau 10.** Fragments théoriques et expérimentaux des contaminants admis au niveau 2.

Contaminants	Fragments mzcloud ( $m/z$ )	Fragments expérimentaux ( $m/z$ )
Acétaminophène	110,0600	110,0599
Cafféine	138,0620	138,0633
Gabapentin	119,0855	119,0861
	137,0961	137,0981
	154,12226	154,1217
Métoprolol	159,0804	159,0798
	191,1067	191,1063
Valenfaxine	121,0648	121,0643
	215,1430	215,1425
	147,0804	147,0822
N, N-Diéthyl-m-toluamide	119,0491	119,0484



**Figure 20.** À gauche, spectre de fragmentation théorique de l'acétaminophène et à droite spectre de fragmentation expérimental.

**Tableau 11.** Résumé des composés détectés aux différents niveaux de détection lors de l'analyse de l'eau de surface de la rivière St-François.

Niveaux d'identification	Strata-X	Ioniques faibles	Temps de rétention théoriques	Temps de rétention expérimentaux
Niveau 1	Acétaminophène	Acétaminophène	2,5	2,5
	Cafféine	Cafféine	4,8	4,8
		Métoprolol	6,2	6,3
Niveau 2	Gabapentin	Gabapentin		
	Venlafaxine	Venlafaxine	x	x
	N,N-Diéthyl-m-toluamide	N,N-Diéthyl-m-toluamide		
Niveau 3	x	x	x	x
Niveau 4	39	91	x	x
Niveau 5	5758	CW:7986	x	x
		AW:8523		

#### 4.6.2 Comparaison des résultats

Les résultats obtenus entre les cartouches ioniques faibles et la cartouche Strata-X permettent d'établir une première comparaison entre les molécules détectées. À première vue, l'utilisation des cartouches ioniques faibles pourraient être un facteur qui abaisserait le nombre de faux négatifs. Ceci se reflète dans tous les niveaux d'identifications. Par exemple, les cartouches ioniques faibles ont permis la détection d'un nombre plus élevé de masses au niveau 5 que la strata-X. Au niveau 4, les résultats obtenus pour le nombre de formules brutes associés par la librairie reflète le nombre de masses détecté au niveau 5. Il est logique de penser que la

probabilité d'avoir une association entre les patrons isotopiques expérimentaux et théoriques augmentent avec le nombre de composés détectés au niveau 5. Au niveau 2, l'écart entre le nombre de composés identifiés par corrélation des spectres de fragmentation, se rétrécit. Un seul composé de plus, le métropolol, a été détecté avec les ioniques faibles. Le métropolol contient une amine secondaire dans sa structure ayant un pKa de 9,67. au pH de l'extraction (pH= 6,5), ce contaminant est sous forme cationique et son extraction a été favorisée par un polymère chargé comparativement au polymère neutre. Il est à noter que lors des tests d'extraction des contaminants modèle, le métropolol avait obtenu un rendement d'extraction fort pour les deux types de cartouches, soit  $84 \pm 5 \%$  et  $91 \pm 2 \%$  pour la Strata-X et les ioniques faibles respectivement à la concentration de 200 pg/ml. Ces résultats ne permettaient pas de distinguer les cartouches au niveau de l'extraction. De plus, la détection du métropolol avec l'algorithme avait été positive dans les deux cas. Par contre, lorsqu'on travaille avec des échantillons réels, la concentration des contaminants dans les échantillons peut être plus basse que la concentration testée lors des tests d'extraction. Les petites différences entre les rendements d'extraction deviennent plus importantes. Ces différences peuvent déterminer si un composé est extrait en assez grande quantité pour avoir l'obtention d'un signal au niveau du spectromètre et obtenir leur détection avec l'algorithme.

Lors de l'identification des contaminants détectés, l'analyse des évidences structurales permettant à un composé de passer d'un niveau d'identification 4 à un niveau d'identification 3, n'a pas été effectuée. Dans le but de renforcer la validité des résultats obtenus pour les contaminants ayant atteint le niveau d'identification 1 et 2, une recherche littéraire a été effectuée sur l'analyse des contaminants émergents dans les eaux de surfaces du Canada. La validité de la présence de ces composés dans la rivière St-François sera effectuée en fonction de la présence de ces composés dans d'autres rivières du Québec. De plus, ces études serviront à mesurer l'efficacité de la méthode développée dans ce mémoire.

Dans une étude effectuée dans les années 2003 à 2009, le ministère du développement durable de l'environnement et des parcs a échantillonné l'eau de surface à l'entrée de 8 stations

d'eau potable au Québec<sup>(52)</sup>. Cette eau a été soumise à des analyses ciblées visant à détecter et à quantifier des produits pharmaceutiques, des produits de soins personnels et des hormones. Au total, 39 contaminants ont été ciblés dans cette étude. Les résultats obtenus ont démontré que 17 produits pharmaceutiques et hormones ont été détectés et les substances ayant la plus haute fréquence de détection à l'entrée des 8 stations d'eau potable (eaux de surface) sont la 17 $\beta$ -Estradiol, l'acétaminophène, la caféine, l'ibuprofène, le naproxène et le triclosan avec des fréquences de 75%, 71%, 71%, 86% et 71% respectivement. Une autre étude effectuée par le ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MDDELCC) ou l'eau du fleuve St-Laurent a été échantillonnée à différents sites sur la période allant des années 2000 à 2014<sup>(53)</sup>. Il a été démontré que différentes classes de contaminants de nouvelle génération, comme les pesticides, les composés perfluorés, les produits ignifuges et les produits pharmaceutiques ont été détectés. Jusqu'à 44 produits pharmaceutiques et d'hygiène personnelle, 13 composés perfluorés et 33 pesticides ont été détectés dans les différents sites d'échantillonnage. Parmi ces produits, l'acétaminophène et la caféine sont des contaminants détectés à des fréquences de détection de 80% et de 85,47% respectivement.

En fonction de ces études, il est normal de penser que la présence de l'acétaminophène et la caféine dans les eaux de la rivière St-François est plausible. Pour ce qui est des autres composés détectés, il est difficile de valider leur présence en fonction de ces études. En effet, l'étude effectuée par le ministère du développement durable ne ciblait pas ces contaminants et l'étude des eaux du fleuve St-Laurent ne fait pas mention des composés pharmaceutiques ciblés. Une étude effectuée par Segura *et Al.*, en analyse semi-ciblée, effectuée en 2010, sur différents types d'eau, a démontré la présence du gabapentin dans l'eau embouteillée, à un niveau de détection 4<sup>(46)</sup>. En contre partie, des études ont démontré que, ces contaminants ont été détectés dans des rivières situées à l'extérieur du Canada, en Amérique du Nord. Par exemple, une révision de la littérature sur la présence de contaminants émergents, démontrent que le gabapentin, le métoprolol et le valénafaxine sont des contaminants qui ont été détectés dans les eaux de surface aux États-Unis<sup>(52)</sup>.

Pour ce qui est de l'efficacité, en terme du nombres de composés détectés, par la méthode semi-ciblée développée dans ce mémoire, il est difficile de pouvoir effectuer une évaluation. Ceci vient du fait que l'analyse des contaminants de nouvelle génération dans les eaux de surface de la rivière St-François n'a jamais été réalisée auparavant. Face aux études présentées plus haut, l'échantillonnage effectué pour la comparaison des cartouches n'est pas représentative de l'échantillonnage effectué dans ces études. En effet, les résultats obtenus pour la rivière St-François, proviennent de l'analyse de 2 échantillons pour chaque cartouche. Comparativement, l'étude de l'eau de surface effectuée a l'entrée des 8 stations d'épuration, par le Ministère du Développement durable de l'Environnement et des Parcs, a été faite sur 56 échantillons pour les hormones et 32 échantillons pour les produits pharmaceutiques et de soins personnels. Dans l'étude des eaux du fleuve St-Laurent, le nombre d'échantillons est aussi nettement supérieur. Par exemple, pour la détection des produits pharmaceutiques et d'hygiène personnelle, de 4 à 14 échantillons par site d'échantillonnage ont été analysés. Il est à noter que dans ces études, peu de contaminants ont été détectés dans 100% des échantillons. D'autres facteurs peuvent influencer le nombre de contaminants détectés dans une étude et la diversité des contaminants détectés. Par exemple, lors de l'étude des eaux du fleuve St-Laurent visant les pesticides, l'échantillonnage a été effectué dans des secteurs agricoles en bordure du fleuve. En comparaison, l'échantillonnage pour l'analyse des composés pharmaceutiques et d'hygiène personnelle a été effectué à proximité de stations d'épuration pré-sélectionnées.

Face à des méthodes similaires d'identification semi-ciblées de contaminants émergents dans les eaux de surface, le taux de détection de la méthode dans ce mémoire reste inférieur. Par exemple, Leendert Vergeynst *et al.* ont appliqué une méthode d'analyse semi-ciblée sur l'eau de surface de la rivière Maas en Belgique<sup>(53)</sup>. Ils ont réussi à identifier 30 composés pharmaceutiques à un niveau d'identification 1. Segura *et al.*, ont aussi effectué une analyse de l'eau de surface de différentes rivières au Canada avec une méthode semi-ciblée<sup>(46)</sup>. Le cours d'eau où le nombre de contaminants détectés est le plus grand est le fleuve St-Laurent,

dans lequel 5 contaminants ont été détectés avec la base de données, ce qui est similaire aux nombres de contaminants détectés avec la méthode de ce mémoire. Même si dans cette comparaison la méthode est similaire, l'efficacité de la méthode est difficilement comparable car le site d'échantillonnage est différent.

Même si l'efficacité de la méthode est difficilement évaluable, les faits relatés dans les derniers paragraphes permettent cependant d'identifier un facteur clé qui pourrait permettre d'atteindre d'une manière plus efficace un des objectifs visés dans ce mémoire. L'échantillonnage pourrait être un facteur clé, permettant d'effectuer la comparaison des résultats d'analyse en fonction des cartouches d'extraction. Dans ce mémoire, le métoprolol est le contaminant qui permet de faire une différenciation préliminaire entre les cartouches ioniques faibles et la cartouche neutre. En fonction de ce qui a été énuméré dans le dernier paragraphe, un plus grand nombre d'échantillons pourrait faire augmenter le nombre de composés détectés. Puisque chaque contaminant possède des structures chimiques différentes et que ces structures influencent les rendements d'extraction, plus le nombre de composés détectés augmente, meilleure est la comparaison des cartouches. Dans le même optique, plus on diversifie le nombre de sites d'échantillonnage, plus grande est la probabilité de détecter des contaminants différents permettant ainsi d'effectuer une meilleure comparaison.

## CONCLUSION

Une méthode d'analyse semi-ciblée en spectrométrie de masse haute résolution a été développée et testée. Un modèle de contaminants de nouvelle génération a été développé. Grâce à ce modèle, différents paramètres de la méthode ont été élaborés. Le développement de la méthode chromatographique a démontré que le type de chromatographie pouvait avoir une influence sur le taux de faux négatifs. Le glyphosate, le contaminant possédant le logD le plus bas parmi les contaminants modèle utilisés pour le développement, n'a pas été retenu avec une colonne chromatographique en phase inverse. En fonction de ce résultat, la chromatographie HILIC a été proposée comme alternative pour retenir les contaminants les plus polaires potentiellement présents dans les eaux de surface. Il a aussi été démontré que le type de phase mobile utilisé pouvait influencer les rendements d'ionisation des différents contaminants. Dans cette étude, le MeOH 0,1% A.F. et le MeOH 1mM AmAc a démontré une plus grande capacité à faire ioniser les divers contaminants modèle comparativement à L'ACN 1% A.F. et à l'ACN 1mM AmAc. Ainsi ces conditions ont été choisies pour la méthode. Il a aussi été discuté que les rendements d'ionisation des contaminants en électronebulisation étaient majoritairement reliés aux caractéristiques des contaminants et qu'ils étaient difficilement contrôlables lors du développement de l'analyse. L'utilisation de diverses sources d'ionisation, impliquant des mécanismes d'ionisation différents a été proposée comme solution pour minimiser le taux de faux négatifs. Le développement de la méthode de spectrométrie de masse a démontré que le type de voltage utilisé avec la cellule de focalisation pour effectuer le transfert des masses vers la chambre de temps de vol pouvait aussi influencer le taux de faux négatifs. Un voltage en mode balayage a été sélectionné pour la méthode d'analyse. Dans le but de développer une méthode d'extraction sur phase solide et d'évaluer l'effet des différents polymères utilisés sur les contaminants extraits, 5 polymères différents ont été testés et comparés. L'extraction à pH 6,5 a été favorisée avec la cartouche neutre Strata-X face à l'extraction à pH 2,5. Pour la comparaison des cartouches, peu de différences ont été obtenus en extrayant les composés modèle de l'eau de la rivière Magog. Le 2,4-D et le diatrizoate de sodium ont été extraits favorablement avec l'utilisation des polymères ioniques forts, soit Strata-X-C et Strata-X-A. Par contre, il a été conclu que ces cartouches ne

pouvaient être utilisées seules car elles négligeraient l'analyse des contaminants ayant des fonctions basiques et acide fortes. À partir des échantillons dopés et extraits dans la matrice de la rivière Magog, la méthode d'identification des composés a été développée. Des paramètres minimums pour le degré de correspondance et le degré de correspondance inverse ayant comme valeur 900 ont été définis. Cette valeur tient compte des effets potentiels de la matrice pouvant abaisser le pointage de corrélation lorsque les contaminants sont en basse concentration. Les résultats ont aussi démontré que l'algorithme admettait un taux de faux négatifs inférieur à 3% pour les composés ayant été extraits à une concentration de 200 pg/mL. Lors de l'évaluation de ces paramètres, il a été observé que les composés organiques d'origine naturelle dans la matrice, pouvaient faire augmenter le nombre de faux positifs dans l'analyse des données obtenues. Il a été proposé comme solution d'utiliser l'injection d'un calibrant en continu durant l'analyse et d'utiliser des logiciels de simulation de temps de rétention pour abaisser ce taux et simplifier l'analyse des données. Lors de la comparaison des cartouches avec l'eau de la rivière St-François, les cartouches Strata-X et ioniques faibles ont été testées. Il a été conclu que les cartouches ioniques fortes seraient comparées lorsqu'une chromatographie en mode HILIC serait développée pour obtenir la détection des composés plus polaires. Pour les polymères comparés, différents contaminants ont été détectés, en différents nombres, aux différents niveaux d'identification. Trois produits pharmaceutiques, soit l'acétaminophène, le valénfexine, le gabapentin, un produit d'usage alimentaire et domestique, la caféine et un produit d'usage contre les insectes, le DEET, ont été identifiés au niveau de détection 2. Deux produits ont été identifiés au niveau de détection 1, soit la caféine et l'acétaminophène. En comparaison, les cartouches ioniques faibles ont permis de détecter les mêmes contaminants à partir du niveau d'identification 2 en plus du métoprolol, un produit pharmaceutique, qui a été confirmé avec son temps de rétention. Par contre la différence obtenue a été jugée comme insuffisante pour discriminer ou non l'utilisation des types de cartouches. Il a aussi été conclu que le nombre d'échantillons analysés et le nombre de rivières échantillonnées pourraient être un facteur prédominant pour établir une comparaison pertinente des cartouches d'extraction et avoir une meilleure idée de leur impact sur le taux de faux négatifs obtenus lors d'une analyse.



Même si le but de cette étude a été partiellement atteint, le développement de cette méthode a permis de faire ressortir plusieurs aspects importants dont on doit tenir compte dans l'élaboration des méthodes semi-ciblées en spectrométrie de masse haute résolution. Ainsi, sans négliger la méthode d'extraction, la méthode chromatographique, de spectrométrie de masse et la méthode de détection des contaminants sont des paramètres à considérer pour la réduction du taux de faux négatifs lors de l'analyse. Tout au long de cette étude, plusieurs facteurs pouvant influencer le taux de faux négatifs pour les paramètres cités plus haut ont été établis et certaines perspectives d'études ont été citées. Comme la méthode d'extraction, l'étude de l'influence de ces paramètres sur les résultats obtenus dans les analyses semi-ciblées, sont souvent négligées par les groupes de recherche. Dans ce sens, les résultats obtenus dans ce mémoire ouvrent la porte à la recherche dans le développement des analyses semi-ciblées, laquelle conduira à une meilleure compréhension de l'impact de chaque paramètre dans la globalité de l'analyse. Les conclusions obtenues concernant l'échantillonnage à être effectué pour l'étude des différents polymères, sont aussi d'une grande importance et peuvent être un facteur clé dans la réussite des études futures sur les paramètres cités plus haut. L'utilisation d'un modèle de contaminants diversifiés est nécessaire pour définir les conditions d'analyse pour chaque paramètre étudié. Par contre, l'utilisation d'un nombre restreint de contaminants dans le modèle est peu représentatif de tous les contaminants potentiellement présents dans les eaux de surface. Ainsi, en effectuant un échantillonnage élaboré, l'obtention d'une diversité structurale et d'un éventail de contaminants représentatifs des contaminants présents dans les eaux de surface, devient de plus en plus probable et renforce la validité des résultats obtenus lors de ces études.

L'utilisation de ces méthodes avec une base de données, ouvre la porte sur la recherche de contaminants non commercialement disponibles, comme certains produits de transformation environnementale des contaminants émergents. En utilisant des logiciels pouvant prédire les produits de transformation pour construire la base de données, il deviendra possible d'identifier une nouvelle gamme de contaminants difficilement identifiable par une analyse ciblée. Cette identification ouvrira aussi la porte à l'étude des analyses toxicologiques et

écotoxicologiques reliées à ces produits de transformation.

À plus grande échelle, l'utilisation de base de données contenant des contaminants potentiellement présents ainsi que leur produit de transformation, serait utile pour les organismes responsables du suivi de la qualité de l'eau potable et de l'eau de surface. La connaissance de la présence de nouveaux contaminants dans les eaux pourra mener à une meilleure élaboration des processus de décontamination des eaux usées et à une meilleure qualité des processus de purification de l'eau potable. De plus, en détectant la présence de nouveaux contaminants s'accumulant dans l'environnement, les ministères pourront plus facilement réglementer l'utilisation de produits organiques.

## ANNEXE

### Annexe 1. Pointage de l'algorithme pour chaque contaminant modèle.

**Tableau 12.** Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés

Contaminants	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I
Naproxène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Acétaminophène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Diclofénac	1000	1000	998	998	1000	1000
Diméthylaminophénazone	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ibuprophène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
cyclophosphamide	999	999	1000	1000	1000	1000
Diatrizoate				n.e		
Acide salicylique	1000	1000	1000	1000	999	999
Roxithromycin	1000	968	1000	969	1000	972
Métoprolol	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Méthotrexate	998	1000	998	1000	998	1000
Gemfibrozil	1000	1000	999	1000	1000	1000
Carbamazépine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Fluoxétine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
17 $\alpha$ -éthinyloestradiol				n.d		
Sulfaméthoxazole	1000	1000	1000	1000	1000	10000
DBP	1000	1000	999	1000	1000	1000
BBP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
ATBC	1000	1000	999	999	999	999
OTSA	999	999	999	999	999	999
TXIB	999	1000	1000	1000	997	998
2,4-D				n.e.		
Carbaryl	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Chlorpyrifos	999	999	994	996	997	998
Linuron	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Atrazine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ofloxacin	863	863	982	982	957	652
thiabendazole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Propylparabène	989	989	1000	1000	1000	1000

Avobenzone	999	1000	999	1000	1000	1000
Ensulizole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Oxybenzone	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Benzophénone-4	995	1000	992	996	994	999
TcPP	999	999	999	999	999	999
TDCPP	1000	1000	999	999	1000	1000
TbP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
TBEP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
sucralose			n.d			

**Tableau 13.** Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X-CW ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés.

Contaminants	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I
Naproxène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Acétaminophène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Diclofénac	997	997	999	999	1000	1000
Diméthylaminophénazone	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ibuprophène	980	997	999	1000	1000	1000
cyclophosphamide	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Diatrizoate				n.e.		
Acide Salicylique	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Roxithromycine				n.e.		
Métoprolol	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Méthotrexate				n.e.		
Gemfibrozil	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Carbamazépine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Fluoxétine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
17 $\alpha$ -éthinyloestradiol				n.i.		
Sulfaméthoxazole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
DBP	999	1000	1000	1000	1000	1000
BBP	1000	1000	999	1000	999	1000
ATBC	1000	1000	1000	1000	1000	1000
OTSA	1000	1000	1000	1000	1000	1000
TXIB	999	1000	1000	1000	999	1000
2.4-D				n.e.		
Carbaryl	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Chlorpyrifos		n.d.	999	999		
Linuron	1000	1000	996	996	999	999

Atrazine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ofloxacin	999	999	947	947	n.d.	
thiabendazole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Propylparabène	1000	987	1000	1000	1000	1000
Avobenzone	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ensulizole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Oxybenzone	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Benzophénone-4	n.d.		982	986	995	1000
TcPP	1000	1000	1000	1000	998	998
TDCPP	999	999	999	999	1000	1000
TbP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
TBEP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
sucralose			n.d.			

**Tableau 14.** Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X-AW ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés

Contaminants	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I
Naproxène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Acétaminophène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Diclofénac	1000	1000	1000	1000	999	999
Diméthylaminophénazone	997	997	993	993	996	996
Ibuprophène	999	999	999	999	1000	1000
Cyclophosphamide	1000	1000	999	999	1000	1000
Diatrizoate			n.e.			
Salicylic acide	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Roxithromycine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Métoprolol	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Méthotrexate	996	986	995	996		
Gemfibrozil	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Carbamazépine	999	1000	1000	1000	1000	1000
Fluoxétine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
17 $\alpha$ -éthinyloestradiol			n.i.			
Sulfaméthoxazole	1000	1000	1000	1000	1000	1000

DBP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
BBP	1000	1000	991	991	1000	1000
ATBC	1000	1000	1000	1000		
OTSA	997	997	999	999	999	996
TXIB	999	1000	1000	1000	1000	1000
2.4-D				n.e.		
Carbaryl	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Chlorpyrifos	995	995	988	988	999	999
Linuron	1000	1000	1000	1000	996	996
Atrazine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ofloxacin	1000	1000	997	998	999	1000
Thiabendazole	995	998	999	999	1000	1000
Propylparabène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Avobenzone	999	999	999	1000	998	999
Ensulizole	996	1000	1000	1000	1000	1000
Oxybenzone	999	999	994	994	1000	1000
Benzophénone-4	995	1000			995	1000
TcPP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
TDCPP	990	990	985	989	1000	1000
TbP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
TBEP	998	998	1000	1000	1000	1000
sucralose				n.d.		

**Tableau 15.** Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X-A ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés.

Contaminants	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I
Naproxène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Acétaminophène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Diclofénac	997	996	997	997	1000	1000
Diméthylaminophénazone	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Ibuprophène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Cyclophosphamide	1000	1000	999	999	n.d.	n.d.
Diatrizoate	999	1000	n.d.	n.d.	978	978
Salicylic acide	999	999	999	999	1000	1000
Roxithromycine	1000	961	1000	959	1000	949
Métoprolol	995	996	995	996	991	991
Méthotrexate	999	999	999	999	1000	1000
Gemfibrozil	1000	1000	1000	1000	999	1000
Carbamazépine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Fluoxétine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
17 $\alpha$ -éthinyloestradiol				n.i.		
Sulfaméthoxazole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
DBP	999	1000	999	1000	999	998
BBP	999	1000	999	1000	989	989
ATBC	1000	1000	1000	1000		
OTSA	1000	1000	1000	1000	1000	1000
TXIB	999	1000	999	1000	999	1000
2.4-D	997	997	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Carbaryl	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Chlorpyrifos			994	996	993	995
Linuron	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Atrazine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ofloxacin	1000	1000	997	997	997	997
Thiabendazole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Propylparabène	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Avobenzone	999	1000	1000	1000		
Ensulizole				n.e.		
Oxybenzone	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Benzophénone-4				n.e.		
TcPP	1000	1000	1000	1000	999	999
TDCPP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
TbP	1000	1000	1000	1000	1000	1000
TBEP	999	997	999	999	999	1000
Sucralose				n.d.		

**Tableau 16.** Pointage obtenu pour la corrélation des patrons isotopiques des contaminants modèles pour la cartouche Strata-X-C ou D.C. est le degré de correspondance, D.C.I est le degré de correspondance inverse, n.e sont les composés non extraits et n.d sont les composés non détectés.

Contaminants	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I	D.C.	D.C.I
Naproxène				n.e.		
Acétaminophène				n.e.		
Diclofénac				n.e.		
Diméthylaminophénazone	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ibuprophène				n.e.		
Cyclophosphamide				n.e.		
Diatrizoate				n.e.		
Salicylic acide				n.e.		
Roxithromycine				n.e.		
Métoprolol	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Méthotrexate				n.e.		
Gemfibrozil				n.e.		
Carbamazépine				n.e.		
Fluoxétine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
17 $\alpha$ -éthinyloestradiol				n.e.		
Sulfaméthoxazole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
DBP				n.e.		
BBP				n.e.		
ATBC				n.e.		
OTSA				n.e.		
TXIB				n.e.		
2.4-D				n.e.		
Carbaryl				n.e.		
Chlorpyrifos				n.e.		
Linuron				n.e.		
Atrazine	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ofloxacin				n.e.		
Thiabendazole	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Propylparabène				n.e.		
Avobenzone				n.e.		
Ensulizole	999	999	1000	1000	1000	1000



Oxybenzone				n.e.			
Benzophénone-4				n.e.			
TcPP				n.e.			
TDCPP				n.e.			
TbP	991	992	1000	1000	1000	1000	1000
TBEP				n.e.			
Sucralose				n.e.			

---

**Annexe 2.** Base de données des contaminants potentiellement présents

**Tableau 17.** Base de données des contaminants potentiellement présents dans les eaux de surface utilisée pour l'analyse de l'eau de la rivière St-François.

Contaminants	<i>m/z</i>
4-Chloroaniline	128,0262
2-Aminobenzimidazole	134,0713
Amphétamine	136,1121
Salicylic acid	139,0390
Méthamidophos	142,0086
Acétaminophène	152,0706
Méthylparabène	153,0546
Aminosalicylic acid	154,0499
3,4-Dichloroaniline	161,9872
Méthomyl	163,0536
Éthylparabène	167,0703
Métronidazole	172,0717
Gabapentin	172,1332
Déisopropylatrazine	174,0541
Paraxanthine	181,0720
Théobromine	181,0720
Propylparabène	181,0859
Triéthyl phosphate	183,0781
Déséthylatrazine	188,0697
Molinate	188,1104
Phénazone	189,1022
Aldicarb	191,0849
Carbendazim	192,0768
N,N-Diéthyl-m-toluamide	192,1383
Cafféine	195,0877
Butylparabène	195,1016
Acide clavulanic	200,0553
Thiabendazole	202,0433
Simazine	202,0854
Carbaryl	202,0863
Aldicarb-sulfoxide	207,0798
Isoproturon	207,1492

Propoxur	210,1125
Ométhoate	214,0297
Phénazopyridine	214,1087
Atrazine	216,1010
5-Hydroxythiabendazole	218,0383
Méprobamate	219,1339
Oxamyl	220,0750
Cimatérol	220,1444
Butylated hydroxy toluène	221,1900
Carbofuran	222,1125
Acétamiprid	223,0745
Aldicarb-sulfone	223,0747
Tripropyl phosphate	225,1250
Éthiofencarb	226,0896
Méthiocarb	226,0896
Cyprodinil	226,1339
Terbutaline	226,1438
Terbuméton	226,1662
Benzophénone-3	229,0859
Benzylparabène	229,0859
Diméthoate	230,0069
Terbuthylazine	230,1167
1-Pipéridinecarboxylique acide 2-(2-hydroxyethyl)-1-méthylpropylester	230,1751
Naproxène	231,1016
Propyphénazone	231,1492
Diuron	233,0243
Cimbuténol	234,1601
Carbamazépine	237,1022
3-Hydroxycarbofuran	238,1074
Nitrofurantoin	239,0411
Pyrimicarb	239,1503
Salbutamol	240,1594
Cyanazine	241,0963
Éthiofencarb-sulfoxide	242,0845
Méthiocarb-sulfoxide	242,0845
Terbutryn	242,1434
Clofibrate	243,0782
Linuron	249,0192

Isoamyl méthoxycinnamate	249,1485
Pindolol	249,1598
Sulfapyridine	250,0645
Oxibendazole	250,1186
Gemifibrozil	251,1642
Thiacloprid	253,0309
10,11-Dihydro-10,11-époxy carbamazépine	253,0972
2-Hydroxy-carbamazépine	253,0972
3-Hydroxy-carbamazépine	253,0972
Phénytoin	253,0972
Cimétidine	253,1230
Sulfaméthoxazole	254,0594
Desméthyldiazépam	255,0684
10-Hydroxy-carbamazépine	255,1128
4-Méthylbenzylidène camphor	255,1743
Imidacloprid	256,0596
Thiobencarb	258,0714
Éthioféncarb-sulfone	258,0795
Méthiocarb-sulfone	258,0795
Propranolol	260,1645
Cyclophosphamide	261,0321
Zilpatérol	262,1550
Nortriptyline	264,1747
o-desméthylvenlafaxine	264,1958
Tramadol	264,1958
Albédazole	266,0958
Aténolol	267,1703
Tri-isobutyl phosphate	267,1720
Tri-n-butyl phosphate	267,1720
Métoprolol	268,1907
10,11-Dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine	271,1077
Trenbolone	271,1693
Sotalol	273,1267
Acide 2-Phénylbenzimidazole-5-sulphonique	275,0485
Nandrolone	275,2006
Nifuroxazide	276,0615
N-Octylbicycloheptène dicarboximide	276,1958
Clenbutérol	277,0869

Amitriptyline	278,1903
Acide octyldiméthyl-p-aminobenzoïque	278,2115
Venlafaxine	278,2115
Oxide triphénylphosphine	279,0933
Oxadixyl	279,1339
Azinphos-méthyl	282,0130
Albendazole-sulfoxide	282,0907
Pendiméthalin	282,1448
Tri(2-chloroéthyl) phosphate	284,9612
Diazépam	285,0789
Déhydrotestostérone	287,2006
Testostérone	289,2162
Benzoylecgonine	290,1387
Clenpentérol	291,1025
Triméthoprim	291,1452
Éthylhexyl méthoxycinnamate	291,1955
Desméthylsertraline	292,0654
Terbinafine	292,2060
Pyrifénoxa	295,0399
Diclofénac	296,0240
N4-acétylsulfaméthoxazole	296,0700
Mébendazole	296,1030
Norfluoxétine	296,1257
Imazalil	297,0556
Albendazole-sulfone	298,0856
Spiroxamine	298,2741
Quinalphos	299,0614
Carazolol	299,1754
19-Noréthindrone	299,2006
Fenbendazole	300,0801
Codéine	300,1594
Hydrocodone	300,1594
Fénoxycarb	302,1387
Ractopamine	302,1751
Methidathion	302,9691
Cambendazole	303,0910
Tetraéthyl éthylène diphosphonate	303,1121
Méthenolone	303,2319

Méthyltestostérone	303,2319
Cocaine	304,1543
Fenotérol	304,1543
Diazinon	305,1083
Sertraline	306,0811
Pirimiphos-méthyl	306,1036
Buprofézin	306,1635
Fluconazole	307,1113
alpha-hydroxytriméthoprim	307,1401
Bétaxolol	308,2220
Phénylbutazone	309,1598
Tripentyl phosphate	309,2189
Fluoxétine	310,1413
Nadolol	310,2013
Diflubenzuron	311,0393
Mabutérol	311,1133
Butyl Benzyl Phtalate	313,1434
Ethisterone	313,2162
Levonorgestrel	313,2162
Flubendazole	314,0935
Trichlorocarban	314,9853
Ranitidine	315,1485
Oxfendazole	316,0750
Timolol	317,1642
Chlorpyrifos-methyl	321,9023
Pyriproxyfen	322,1438
Chloramphenicol	323,0196
Mapenterol	325,1289
Citalopram	325,1711
Tri(chloropropyl) phosphate	327,0081
Triphényl phosphate	327,0781
Stanozolol	329,2587
Mécarbam	330,0593
Paroxétine	330,1500
Malathion	331,0433
Oxfendazole sulfone	332,0700
Ciprofloxacine	332,1405
Tebufenpyrad	334,1681

Fluoxymestérone	337,2173
Famotidine	338,0522
Pipéronyl butoxide	339,2166
Pyridaphenthion	341,0719
Médroxyprogestérone	345,2424
16beta-Hydroxystanozolol	345,2537
Triflumizole	346,0929
Céphalexin	348,1013
Énalaprilate	349,1758
Penicillin V (Phenoxymethyl)	351,1009
Hexythiazox	353,1085
Tébufénozide	353,2224
Thiodicarb	355,0563
Chlorsulfuron	358,0371
Triclabendazole	358,9574
Enrofloxacin	360,1718
Fenofibrate	361,1201
Lvofloxacin	362,1511
Octocrylene	362,2115
2-Ethylhexyl diphenyl phosphate	363,1720
Cefadroxil	364,0962
Brombuterol	364,9859
Pyridaben	365,1449
Amoxicillin	366,1118
Tricresyl phosphate	369,1250
Lansoprazole	370,0832
Tamoxifen	372,2322
Quizalofop-ethyl	373,0950
Haloxypop-methyl	376,0558
Enalapril	377,2071
Teflubenzuron	380,9815
Loratadine	383,1521
Fluazifop-P-butyl	384,1417
Dimethomorph	388,1310
Mevastatin	391,2479
Dietrhyllhexyl phtalate	391,2843
Dexaméthasone	393,2072
Tributoxyethyl phosphate	399,2506

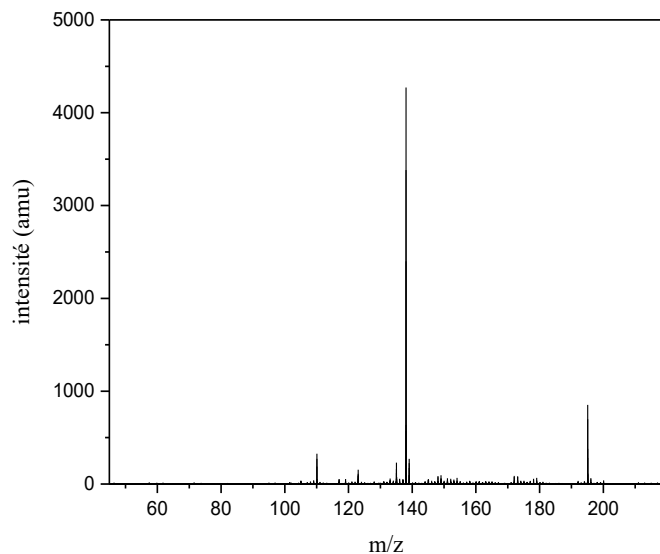
Moxifloxacin	402,1824
Azoxystrobin	404,1241
Lisinopril	406,2336
Lincomycin	407,2210
Cefprozil	408,1224
Risperidone	411,2191
Diltiazem	415,1686
Simvastatin	419,2792
Clindamycin	425,1871
Pravastatin	425,2534
Tri(1-chloromethyl-2-chloroethyl) phosphate	428,8912
Triforin	432,9321
Haloxypop-2-ethoxyethyl	434,0977
Tri(2-ethylhexyl) phosphate	435,3598
Cloxacillin	436,0728
Valsartan	436,2343
Doxycycline	445,1605
Tétracycline	445,1605
Febantel	447,1333
Méthotrexate	455,1786
Minocycline	458,1922
Hexaflumuron	460,9889
Oxytétracycline	461,1555
Chlortetracycline	479,1216
Flufenoxuron	489,0435
Glibenclamide	494,1511
Lufénuron	510,9857
Céfuroxime axetil	511,1129
Tétrabromobiphenol-A	540,7644
Atorvastatin	559,2603
o-Hydroxy-atorvastatin	575,2552
p-Hydroxy-atorvastatin	575,2552
Progestérone	603,1403
Érythromycin-H <sub>2</sub> O	716,4580
Érythromycin	734,4685
Clarithromycin	748,4842
Azithromycin	749,5158
Télithromycin	812,4804



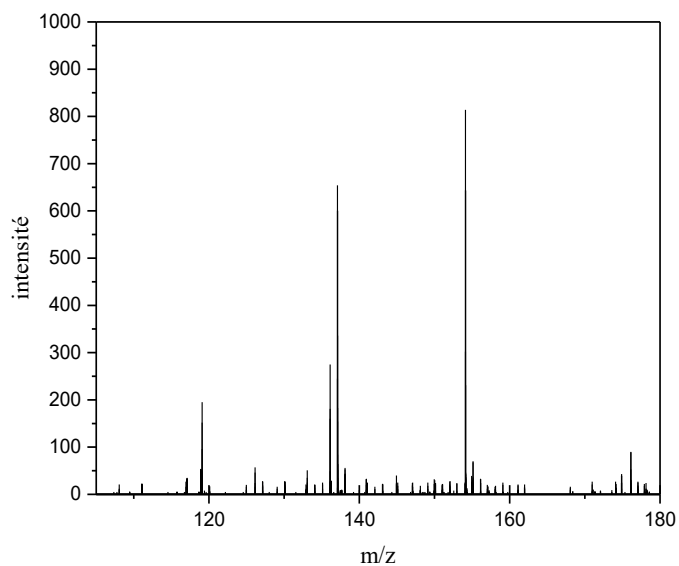
Josamycin	828,4740
Roxithromycin	837,5318
Tylosin	916,5264
Nystatin	926,5108

---

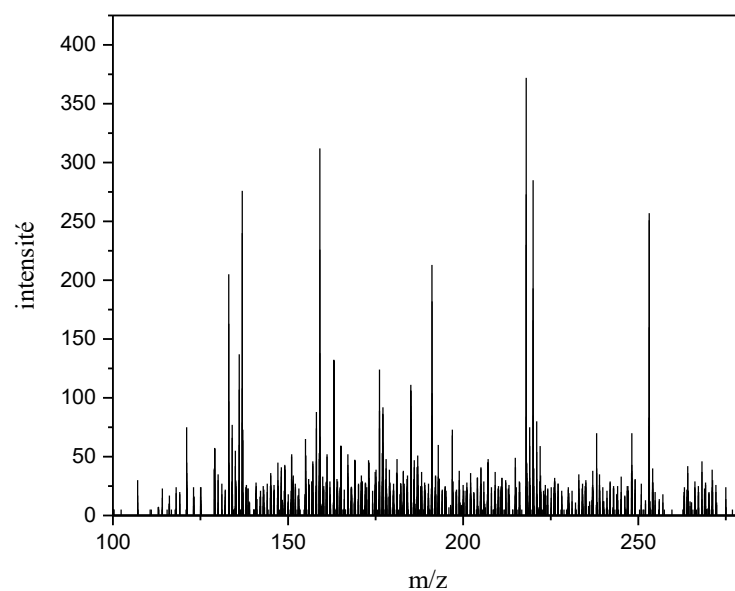
### Annexe 3. Spectres MS/MS des contaminants dans l'eau de la rivière St-François



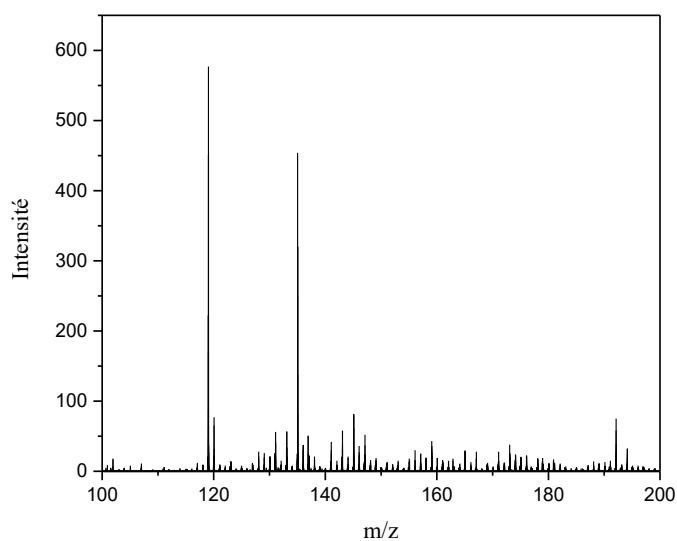
**Figure 21.** Spectre de fragmentation expérimental de la caféine pour l'identification au niveau 2.



**Figure 22.** Spectre de fragmentation expérimental du gabapentin pour l'identification au niveau 2.



**Figure 23.** Spectre de fragmentation expérimental du métoprolol pour l'identification au niveau 2.



**Figure 24.** Spectre de fragmentation expérimental du N,N-Diéthyl-m-toluamide pour l'identification au niveau 2

## BIBLIOGRAPHIE

1. J. SCHWARZBAUER, *Organic Contaminants in Riverine and Groundwater Systems*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (2006).
2. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, *Présence de pesticides dans l'eau au Québec : Portrait et tendances dans les zones de maïs et de soya – 2011 à 2014*, (2015).
2. M.A.E.D.E.L. ORENZO, G. E. I. S. COTT, et P. H. E. R. OSS, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 84, (2001).
3. H. FIEDLER, , *Chemosphere*, **32**, 55, (1996).
4. J. SCHWARZBAUER, *Organic Contaminants in Riverine and Groundwater Systems*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (2006).
5. M. KRAUSS, H. SINGER, et J. HOLLENDER, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **397**, 943, (2010).
6. T. REEMTSMA et M. JEKEL, *Organic Pollutants in the Water Cycle*. (2006).
7. S.C. MONTEIRO et A.B.A. BOXALL, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **202**, 54, (2010).
8. D.G.J. LARSSON, *Philosophical Transactions of the royal society B*, **369**, 1, (2014).
9. J.L. LIU et M.H. WONG, *Environmental International*, **59**, 208, (2013).
10. V. DULIO, A. MORIN, et P.F. STAUB, *Aquaref, INERIS*, (2009).
11. S. VILLA, L. ASSI, A. IPPOLITO, P. BONFANTI, et A. FINIZIO, *Science of the total Environment*, **416**, 137, (2012).
12. J.M. BRAUSCH et G.M. RAND, *Chemosphere*, **82**, 1518, (2011).
13. C. HAMAN, X. DAUCHY, C. ROSIN, et J.F. MUNOZ, *Water Research*, **68**, 1, (2015).
14. S. RAMOS, V. HOMEM, A. ALVES, et L. SANTOS, *Science of the total Environment*, **526**, 278, (2015).
15. J.M. BRAUSCH et G.M. RAND, *Chemosphere*, **82**, 1518, (2011).
16. W. HUA, E.R. BENNETT, et R.J. LETCHER, *Environmental International*, **31**, 621, (2005).
17. K.S. KUMAR, S.M. PRIYA, A.M. PECK, et K.S. SAJWAN, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **58**, 275, (2010).

18. Lowell center for sustainable production, *phthalates and their alternatives: health and environmental concerns*, (2011).
19. Institut national de santé publique du Québec, *Les phthalates: état des connaissances sur la toxicité et l'exposition de la population générale*, (2004).
20. D. GAO et Z. WEN, *Science of the total Environment.*, **541**, 986, (2016).
21. T. REEMTSMA, J.B. QUINTANA, R. RODIL, M. GARCIA-LÓPEZ, ET I. RODRIGUEZ, *TrAC Trends Anal. Chem.*, **27**, 727, (2008).
22. I. VAN DER VEEN et J. DE BOER, *Chemosphere*, **88**, 1119, (2012).
23. K.J. CHO, T. HIRAKAWA, T. MUKAI, K. TAKIMOTO, et M. OKADA, *Water Research.*, **30**, 1431, (1996).
24. <https://www.epa.gov/minimum-risk-pesticides/what-pesticide>
25. Développement durable, Environnement et Parcs, *Bilan des ventes de pesticides au Québec pour l'année 2009*. (2012).
26. F.T. LANGE, M. SCHEURER, et H. BRAUCH, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **403**, 2503, (2012).
27. J.L. PARROTT et B.R. BLUNT, *Environmental. Toxicology.*, **20**, 131, (2005).
28. J. AAMAND, M. GAVRILESCU, S. AGATHOS, et F. FAVA, *New Biotechnology* **32**, 147, (2015).
29. B. ZONJA et A. DELGADO, *Environmental science & technology*, **49**, 3464 (2015).
30. C. HUG, N. ULRICH, T. SCHULZE, W. BRACK, et M. KRAUSS, *Environmental. Pollution.*, vol. **184**, 25, (2014).
31. P. GAGO-FERRERO, E. L. SCHYMANSKI, A. A. BLETSOU, R. AALIZADEH, J. HOLLENDER, et N. S. THOMAIDIS, *Environmental science & technology*, **49**, 12333 (2015).
32. L. HUMBERT, , *Annales de Toxicologie Analytique*, **22**, 61, (2010).
33. Phenomenex , *Keep it Clean with Strata -X*, (2011).
34. E. HOFFMANN et V. STROOBANT, *Mass Spectrometry Principles and Applications.*, John Wiley & Sons (2001).
35. Brucker Daltonics, *User Manual*, 2008.
36. F. ROUESSAC, et A. ROUESSAC, *Analyse chimique 6e édition*, Dunod, Paris, (2004) .

37. <http://www.shimadzu.com/an/lcms/support/intro/lib/lctalk/47/47intro.html>
38. N. B. CECH et C. G. ENKE, *Mass Spectrometry review*, **20**, 362, (2002).
39. L. L. JESSOME et A. DIETRICH, *LCGC North America*, **24**, 498, (2006).
40. E. L. SCHYMANSKI, J. JEON, R. GULDE, K. FENNER, M. RU, H. P. SINGER, et J. HOLLENDER, *Environmental science & technology*, **48** 2097, (2014).
41. TRINE HENRIKSEN et RENÉ K. JUHLER, *American Society for Mass Spectrometry*, **16**, 446, (2004).
42. Ministère de l'Environnement Gouvernement du Québec, *Suivi de la qualité de l'eau des rivières et petits cours d'eau*, (2000).
43. Santé Canada, *Sunscreen Monograph Health Products and Food Branch*, (2013).
44. Commission européenne, *Name of Common Ingredients Glossary Name of Common Ingredients Glossary*, (2016).
45. Institut national de santé publique du québec, *Les phtalates: état des connaissances sur la toxicité et l'exposition de la population générale*, (2004).
46. Lowell Center for Sustainable Production, *Phthalates and Their Alternatives : Health and Environmental Concerns*, (2011).
47. P. A. SEGURA, S. L. MACLEOD, P. LEMOINE, S. SAUVÉ, et C. GAGNON, *Chemosphere*, **84**, 1085, (2011).
48. <https://www.ville.sherbrooke.qc.ca/sous-site/environnement/gestion-des-eaux/eaux-usees/traitement-des-eaux-usees/>
49. B. BUSZEWSKI, et S. NOGA, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **402**, 231, (2012)
50. B. A. HU, M. L. POLTASH, et C. A. HUGHEY, *Analytical chemistry*, **84**, 9942, (2012).
51. Développement durable, Environnement et Parcs, *Résultats du suivi des produits pharmaceutiques et de soins personnels ainsi que des hormones dans des eaux usées, de l'eau de surface et de l'eau potable au québec*, (2009).
52. I.GIROUX, S. HÉBERT et D. BERRYMAN, *Le naturaliste Canadien*, **140**, 26, (2016).
53. R. P. Deo, *Current Environmental Health Reports*, **1** 113, (2014).
3. M.A.E.D.E.L. ORENZO, G. E. I. S. COTT, et P. H. E. R. OSS, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 84, (2001).

4. H. FIEDLER, , *Chemosphere*, **32**, 55, (1996).
5. M. KRAUSS, H. SINGER, et J. HOLLENDER, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **397**, 943, (2010).
6. B. ZONJA et A. DELGADO, *Environmental science & technology*,**49**, 3464 (2015).
7. C. HUG, N. ULRICH, T. SCHULZE, W. BRACK, et M. KRAUSS, *Environmental Pollution.*, vol. **184**, 25, (2014).
8. D.G.J. LARSSON, *Philosophical Transactions.of the royal society B*, **369**, 1, (2014).
9. T. REEMTSMA et M. JEKEL, *Organic Pollutants in the Water Cycle*. (2006).
10. S.C. MONTEIRO et A.B.A. BOXALL, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **202**, 54, (2010).
11. J.L. LIU et M.H. WONG, *Environmental International*, **59**, 208, (2013).
12. V. DULIO, A. MORIN, et P.F. STAUB, *Aquaref, INERIS*,(2009).
13. S. VILLA, L. ASSI, A. IPPOLITO, P. BONFANTI, et A. FINIZIO, *Science of the total Environment.*, **416**, 137, (2012).
14. J.M. BRAUSCH et G.M. RAND, *Chemosphere*, **82**, 1518, (2011).
15. C. HAMAN, X. DAUCHY, C. ROSIN, et J.F. MUNOZ, *Water Research.*, **68**, 1, (2015).
16. S. RAMOS, V. HOMEM, A. ALVES, et L. SANTOS, *Science of the total Environment.*, **526**, 278, (2015).
17. J.M. BRAUSCH et G.M. RAND, *Chemosphere*, **82**, 1518, (2011).
18. W. HUA, E.R. BENNETT, et R.J. LETCHER, *Environmental International*, **31**, 621, (2005).
19. K.S. KUMAR, S.M. PRIYA, A.M. PECK, et K.S. SAJWAN, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **58**, 275, (2010).
20. Lowell center for sustainable production, *phtalates and their alternatives: health and environmental concerns*, (2011).
21. Institut national de santé publique du Québec, *Les phatalates: état des connaissance sur la toxicité et l'exposition de la population générale*, (2004).
22. D. GAO et Z. WEN, *Science of the total Environment.*, **541**, 986, (2016).
23. T. REEMTSMA, J.B. QUINTANA, R. RODIL, M. GARCIA-LÓPEZ, ET I.

- RODRIGUEZ, *TrAC Trends Anal. Chem.*, **27**, 727, (2008).
24. I. VAN DER VEEN et J. DE BOER, *Chemosphere*, **88**, 1119, (2012).
25. M. DIRY, C. ROBILLOT, et R. BAROUKI, *Cancer research* **61**, 3942, (2001).
26. Développement durable, Environnement et Parcs, *Bilan des ventes de pesticides au québec pour l'année 2009*. (2012).
27. J.L. PARROTT et B.R. BLUNT, *Environmental. Toxicology.*, **20**, 131, (2005).
28. J. AAMAND, M. GAVRILESCU, S. AGATHOS, et F. FAVA, *New Biotechnology* **32**, 147, (2015).
29. B. ZONJA et A. DELGADO, *Environmental science & technology*, **49**, 3464 (2015)
30. L. HUMBERT, , *Annales de Toxicologie Analalytique*, **22**, 61, (2010).
31. Phenomenex , *Keep it Clean with Strata -X*, (2011).
32. E. HOFFMANN et V. STROOBANT, *Mass Spectrometry Principles and Applications.*, John Wiley & Sons (2001).
33. Bruker Daltonics, *User Manual*, 2008.
34. F. ROUESSAC, et A. ROUESSAC, *Analyse chimique 6e édition*, Dunod, Paris, (2004) .
35. A. DOES et N. PREDICT, *Carcinogens* , **106**, 203, (1998).
36. N. B. CECH et C. G. ENKE, *Mass Spectrometry review*, **20**, 362, (2002).
39. L. L. JESSOME et A. DIETRICH, *LCGC North America*, **24**, 498, (2006).
40. E. L. SCHYMANSKI, J. JEON, R. GULDE, K. FENNER, M. RU, H. P. SINGER, et J. HOLLENDER, *Environmental science & technology*, **48** 2097, (2014).
41. TRINE HENRIKSEN et RENÉ K. JUHLER, *American Society for Mass Spectrometry*, **16**, 446, (2004).
42. Ministère de l'Environnement Gouvernement du Québec, *Suivi de la qualité de l'eau des rivières et petits cours d'eau*, (2000).
43. Santé Canada, *Sunscreen Monograph Health Products and Food Branch*, (2013).
44. Commission européenne, *Name of Common Ingredients Glossary Name of Common Ingredients Glossary*, (2016).
45. Institut national de santé publique du québec, *Les phtalates: état des connaissances sur la toxicité et l'exposition de la population générale*, (2004).



46. Lowell Center for Sustainable Production, *Phthalates and Their Alternatives : Health and Environmental Concerns*, (2011).
26. F.T. LANGE, M. SCHEURER, et H. BRAUCH, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **403**, 2503, (2012).
47. P. A. SEGURA, S. L. MACLEOD, P. LEMOINE, S. SAUVÉ, et C. GAGNON, *Chemosphere*, **84**, 1085, (2011).
48. <https://www.ville.sherbrooke.qc.ca/sous-site/environnement/gestion-des-eaux/eaux-usees/traitement-des-eaux-usees/>
49. B. BUSZEWSKI, et S. NOGA, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **402**, 231, (2012)
50. B. A. HU, M. L. POLTASH, et C. A. HUGHEY, *Analytical chemistry*, **84**, 9942, (2012).
51. J. ROBLES-MOLINAS, F. J. LARA-ORTEGA, B. GILBERT LOPEZ, J.F. GARCIA-REYES, et A. MOLINA DIAZ, *Journal of Chromatography A*, **1350**, 30, (2014).
- 52 J. NURMI et J. PELLINEN, *Journal of Chromatography A*, **1218**, 6712, (2011).
53. Développement durable, Environnement et Parcs, *Résultats du suivi des produits pharmaceutiques et de soins personnels ainsi que des hormones dans des eaux usées, de l'eau de surface et de l'eau potable au québec*, (2009).
54. I.GIROUX, S. HÉBERT et D. BERRYMAN, *Le naturaliste Canadien*, **140**, 26, (2016).
55. R. P. Deo, *Current Environmental Health Reports*, **1** 113, (2014).
- 56 L. Vergeynst et H. Van Langenhove, *Anal of bioanalytical chemistry*, **406** 2533, (2014).